

Aus der Universitäts-Frauenklinik in Marburg
(Direktor: Prof. Dr. med. R. Buchholz)

Die Harnausscheidung von Oestriol nach parenteraler Verabreichung kristallinen Oestriols

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Klaus-Dietrich Waschke
aus Dessau

Marburg 1966

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Universitäts-Frauenklinik in Marburg
(Direktor: Prof. Dr. med. R. Buchholz)

Die Harnausscheidung von Oestriol nach parenteraler Verabreichung kristallinen Oestriols

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Klaus-Dietrich Waschke

aus Dessau

Marburg 1966

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 24.5. 1966
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät
Dekan: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco
Referent: Prof. Dr. med. A. Würterle
Correferent: Prof. Dr. med. W. Schmid

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Vorbemerkungen über:	4
1. Bildungsstätten der Oestrogene	4
2. Verteilung und Speicherung der Oestrogene	8
3. Zwischenstoffwechsel der Oestrogene	9
4. Ausscheidung der Oestrogene	13
III. Methode zur chemischen Bestimmung der Oestrogene	15
1. Grundlagen der Methode	15
2. Beschreibung der Methode	17
3. Materialien	22
4. Zuverlässigkeitskriterien	26
IV. Eigene Untersuchungen	29
V. Diskussion der Ergebnisse	50
VI. Zusammenfassung	56
VII. Literaturnachweis	57



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung:

Oestrogene sind von Ovar, Testis, Nebennierenrinde und Placenta gebildete Steroide, wegen ihres spezifischen genitalen Effektes werden sie weibliche Geschlechtshormone genannt.

Bevor die chemische Natur der Oestrogene bekannt war, wurden mit biologischen Methoden Oestrogenbestimmungen durchgeführt. Diese waren bei weitem nicht so genau und zuverlässig wie die heute bekannten chemischen Bestimmungsmethoden. Die älteste biologische Methode zum Nachweis von Oestrogenen ist der von Allen und Doisy (2) 1923 angegebene vaginale Verhornungstest. An die Beobachtung von Stockard und Papanicolaou (65) anknüpfend, die bei Nagern zur Brunst im Vaginalsekret regelmäßig wiederkehrende verhornende Zellveränderungen feststellten, konnten Allen und Doisy zeigen, daß bei kastrierten Ratten und Mäusen durch Injektion von Oestrogenen sich dieselben Verhornungserscheinungen am Vaginalepithel hervorrufen lassen, die zur natürlichen Brunst auftreten.

Weitere biologische Methoden sind der von Evans und Mitt. (37) angewandte Uteruswachstumstest, wobei die Zunahme des Uterusgewichts bei infantilen oophorektomierten Tieren quantitativ an Hand von Vergleichsversuchen mit Oestronstandardpräparaten ausgewertet wird, und der sehr empfindliche, aber wenig angewendete Vaginalöffnungstest von Curtis und Doisy (25). Diese machten die Beobachtung, daß sich nach Verabreichung von Oestrogenen bei infantilen Nagern der Introitus vaginae öffnet.

Zahlreiche Forscher bemühten sich um die Isolierung und Strukturaufklärung des "Follikelhormons". 1929 gelang Doisy und Mitt. (36) und wenige Monate später unabhängig davon Butenandt (18) die Isolierung einer kristallinen, oestrogen wirksamen Substanz, deren Strukturformel von Butenandt (19), Thayer (66) und Marrian (58) ermittelt wurde. Auf Vorschlag einer englischen Forschergruppe wurde dieses Hormon Oestron genannt (1). Kurze Zeit später wurden weitere oestrogen wirksame Substanzen aus dem Harn schwangerer Frauen isoliert. Marrian (56) fand das Oestriol, dessen Struktur ebenfalls von Butenandt (20) aufgeklärt werden konnte. Schwenk (64) gelang schließlich die Darstellung des 17 β -Oestradiols.

Diese als die drei klassischen Oestrogene bezeichneten Hormone sind allerdings nicht die einzigen. Bis heute wurden beim Menschen mindestens 18 verschiedene natürliche Oestrogene isoliert, wobei es sich wahrscheinlich zum größten Teil um Metaboliten von Oestron und/oder Oestradiol handelt. Als wichtiger Hinweis für die Annahme, daß diese beiden Oestrogene die primären Ovarialhormone sind, müssen die Untersuchungen der Hormonlaboratorien in Köln und Stockholm (9) angesehen werden, die Oestron und 17 β -Oestradiol in vorwiegend freier Form in der Follikelflüssigkeit nachweisen konnten, während Oestriol und andere Hormone nicht in freier Form vorlagen.

Nachdem die Isolierung und Aufklärung der chemischen Struktur gelungen war, konnten in der Folgezeit weit- aus empfindlichere und genauere biochemische, physi-

kalische und chemische Methoden zur Oestrogenbestimmung entwickelt werden.

Erwähnt sei die enzymatische Bestimmungsmethode von Gordon und Vिलlee (42), die auf der Beeinflussung des Isocitrat-Dehydrogenasesystems durch die Oestrogene beruht, und von den physikalischen Methoden die Isotopenmessung (52), mit der sich sehr kleine Oestrogenmengen bestimmen lassen. Eine Reihe weiterer Methoden wurden entwickelt, die sich zum großen Teil nicht durchsetzen konnten.

Von den chemischen Methoden haben sich besonders die colorimetrischen bewährt. Die Kober - Farbreaktion (50) ist die gebräuchlichste. Sie wird auch in den von Brown (12) und Bauld (4) entwickelten Verfahren angewendet. Brown (14) hat seine 1955 angegebene Methode inzwischen soweit verbessert, daß 0,1 - 0,2 µg der klassischen Oestrogene verläßlich meßbar sind. Mit der von Brown und Mitt. angegebenen Methode wurden auch die Untersuchungen ausgeführt, über die im Folgenden berichtet wird.

Aufgabe meiner Arbeit war es, zu prüfen in welcher Zeit und Größenordnung die Verabreichung kristallinen Oestriols die Harnausscheidung von Oestriol verändert.

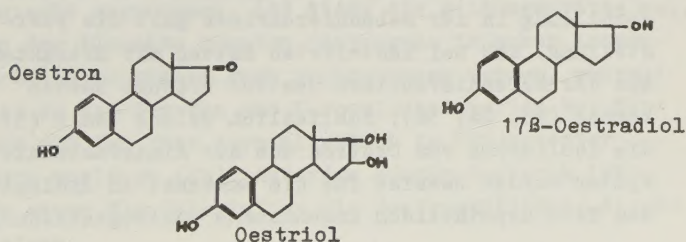


Abb. 1 Strukturformeln der drei klassischen Oestrogene

II. Für die Erörterung der in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse der Untersuchungen sollen einige Vorbemerkungen über Bildungsstätten, Verteilung und Speicherung, Zwischenstoffwechsel und Ausscheidung der Oestrogene vorausgeschickt werden.

1. Bildungsstätten der Oestrogene:

Die Oestrogene werden in den steroidproduzierenden Drüsengeweben gebildet, wozu Ovar, Nebennierenrinde, Testis und Plazenta gehören. Bei der geschlechtsreifen, nichtschwangeren Frau, ist das Ovar die hauptsächliche Oestrogenproduzierende Drüse. Sowohl in der Follikelflüssigkeit als auch im Corpus luteum konnten hohe Konzentrationen an Oestron und 17 β -Oestradiol in vorwiegend freier Form nachgewiesen werden (3, 9). Ob die Oestrogene in den Granulosa- oder Thecazellen gebildet werden, darüber gehen die Meinungen zur Zeit noch auseinander. Am naheliegendsten scheint, daß die Oestrogene von den Granulosazellen produziert und in der Theca lediglich gespeichert und weiter metabolisiert werden (33).

Als erster Hinweis auf die Möglichkeit der Oestrogenbildung in der Nebennierenrinde galt die Feststellung, daß bei kastrierten Ratten mit Extrakten aus der Nebennierenrinde Oestrus erzeugt werden konnte (23, 24, 38). Schließlich gelang Beall (5) die Isolierung von Oestron aus der Rindernebenniere. Später wurden Beweise für die zunächst in Analogie zum Tier hypothetisch angenommene Oestrogenbildung

in der menschlichen Nebennierenrinde erbracht. So wurde von Salhanick und Berliner (62) in einem Nebennierenrindencarcinom Equilenin gefunden. Dies war zugleich der erste Nachweis des hauptsächlich beim Pferd vorkommenden Hormons im menschlichen Organismus. Weiterhin zeigten Hardy und Mitt. (45), daß die Oestrogenkonzentration in den Nebennierenvenen wesentlich höher ist als im peripheren Venenblut, wo sie kaum meßbar ist. Im Harn oophorektomierter Frauen wurde schließlich Oestrogenaktivität festgestellt, die nach zusätzlicher Adrenalektomie praktisch nicht mehr nachweisbar war (8, 16).

Nachdem aus Harn und Hodengewebe von Hengsten große Oestrogenmengen isoliert worden waren (44) und 1940 von Beall (6) als Oestron und 17 β -Oestradiol identifiziert werden konnten, lag die Vermutung nahe, daß der menschliche Hoden ebenfalls zur Oestrogenbildung fähig sei. Dingemanse und Mitt. (35) haben Oestron aus Männerharn, Goldzieher und Roberts (40, 41) 17 β -Oestradiol aus menschlichem Hodengewebe isoliert, wodurch die Oestrogenbildung in den Testes gesichert war.

Da in der Schwangerschaft die Oestrogenausscheidung parallel zum Gewicht der Placenta zunimmt (13), wurde zurecht angenommen, daß diese die Bildungsstätte sei. In der Placenta konnten Oestrogene in hoher Konzentration in freier Form nachgewiesen werden, während sie in den Geweben und Körperflüssigkeiten bei Mutter und Fet fast ausschließlich in konjugierter Form vorlagen (29). Außerdem konnte Declerck (26) in einer Placentarkultur die Oestrogenbildung direkt zeigen.

In welcher Größenordnung die Oestrogene von den einzelnen inkretorischen Drüsen sezerniert werden, läßt sich nicht ohne weiteres eruieren. Bisher konnten diese Mengen nur indirekt aufgrund von Bestimmungen am isolierten Gewebe, im Blut sowie der Harn- und Stuhlausscheidung errechnet werden. Einen anderen Weg ging J.B. Brown (13), der die durch Belastungsversuche im Urin wiedergefundenen Oestrogenmengen zur verabreichten Dosis in Beziehung setzte und davon ausging, daß die injizierten Oestrogene dem gleichen Stoffwechsel und Ausscheidungsmechanismus wie die körpereigenen unterliegen.

Er kam zu folgenden Ergebnissen: 14 Tage vor der Ovulation werden 80 - 120 $\mu\text{g}/\text{die}$ (hauptsächlich 17 β -Oestradiol und Oestron) gebildet, zur Zeit der Ovulation 260 - 340 $\mu\text{g}/\text{die}$ und in der Corpus luteum Phase ca. 200 $\mu\text{g}/\text{die}$.

Für die Schwangerschaft hat Brown die anschließenden Relationen errechnet: 10 Wochen nach der letzten Menstruation werden nur etwa 1 mg Gesamtoestrogene/die sezerniert, bis zur 20. Woche ca. 20 mg/die und in der 38. - 40. Woche 40 - 100 mg/die.

Die Harnausscheidung der drei klassischen Oestrogene fand Brown (15) in folgender Größenordnung (Mittelwerte):

	Oestron	17 β -Oestradiol	Oestriol
Postmenstruelles Minimum:	2,8 $\mu\text{g}/\text{d}$	0,7 $\mu\text{g}/\text{d}$	4,7 $\mu\text{g}/\text{d}$
Ovulationsmaximum:	20,1 $\mu\text{g}/\text{d}$	7,9 $\mu\text{g}/\text{d}$	30,9 $\mu\text{g}/\text{d}$
Lutealmaximum:	11,3 $\mu\text{g}/\text{d}$	5,0 $\mu\text{g}/\text{d}$	21,1 $\mu\text{g}/\text{d}$

Als mittlere totale Oestrogenproduktion während eines ganzen Zyklus hat Brown etwa 5 mg errechnet, wobei das Verhältnis Oestron : 17 β -Oestradiol 2:1 und das Verhältnis Oestriol : Oestron + 17 β -Oestradiol 1:1 sein soll.

Diese Größenordnung der Oestrogenbildung bzw. -ausscheidung gilt nur bei voll funktionstüchtigen Ovarien.

Im Klimakterium kommt es parallel zum Nachlassen der ovariellen Funktion zu einer Verminderung der ovariellen Oestrogenbildung. Dieser Vorgang soll in verschiedenen Phasen ablaufen. Wenner und Hauser (69) unterscheiden 3 Phasen: 1. Die Prämenopause mit allmählicher Abnahme der Corpus - luteum - Funktion, aber mit weiterbestehender Bildung von Oestrogenen. 2. Die Postmenopause als hypofollikuline Phase mit deutlich verminderter Oestrogenausscheidung und reaktivem Anstieg der Gonadotropine. 3. Die Menopause und Adrenopause im Senium ohne meßbare Oestrogenausscheidung. Brown (11) hat als Durchschnittswerte für die Oestrogenausscheidung bei Frauen in der Menopause folgende Zahlen angegeben:

Oestron	17 β -Oestradiol	Oestriol
1,4 μ g/d	0,3 μ g/d	4,1 μ g/d

Es ist anzunehmen, daß in der späten Menopause der größte Teil der im Harn ausgeschiedenen Oestrogene aus der Nebennierenrinde stammt, da nach Oophorektomie kein wesentlicher Oestrogenabfall mehr eintreten soll (31).

Ähnliche Verhältnisse liegen nach chirurgischer Kastration und vollständiger radiologischer Ausschal-

tung der Ovarien vor. Diszfalusy und Westman (34) fanden bei ovariectomierten Frauen je 2 - 3 μ g Oestron, 17 β -Oestradiol und Oestrial. Aus den Ergebnissen der Untersuchungen verschiedener Autoren ist anzunehmen, daß in der Menopause höchstens bis zu 20 μ g Oestrogene ausgeschieden werden, an Oestriol ca. 5 - 10 μ g.

2. Verteilung und Speicherung der Oestrogene:

Bei den hierüber bekannten Befunden handelt es sich fast ausschließlich um Ergebnisse aus Tierversuchen, wobei sich die Frage stellt, ob diese Ergebnisse ohne weiteres auf den Menschen zu übertragen sind.

Nach intravenöser Injektion von radioaktiv markiertem C₁₆¹⁴- Oestron bei Ratten fand Heusghem (47) nach 1 Min. nur 25% der verabfolgten Dosis wieder und zwar 19% in der Leber, 2,4% in den Nieren, 2% in den Lungen und jeweils weniger als 1% in Milz, Herzmuskel und Blut. Bei Kaninchen konnte er nach 2 Min. nur noch 2,5% nachweisen, wobei der größte Teil wiederum auf die Leber entfiel. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen andere Untersucher, die damit die große Bedeutung der Leber für den Oestrogenstoffwechsel unterstrichen. Bei der Frage nach einer möglichen Speicherung der Oestrogene im Organismus sei auf die Untersuchungen von Kaufmann und Zander (49) hingewiesen, die diese für Progesteron im Fettgewebe bewiesen haben. Eine Speicherung der Oestrogene im Fettgewebe lag daher nahe. An Tierversuchen konnten Koch und Mitt. (51) zeigen, daß hohe Oestrogenkonzentrationen außer in der Leber

im Fettgewebe vorhanden waren. Als Depotorgan, wie es für das Fettgewebe angenommen wird, aus dem die biologisch aktiven Oestrogene jeder Zeit mobilisiert werden können, spielt die Leber keine Rolle, da die Oestrogene dort kontinuierlichen Abbauvorgängen unterworfen sind. Bei Versuchen am Menschen konnte für verschiedene synthetische Oestrogene, z.B. Tri-anisylchloro-aethylen (Tace), tatsächlich eine elektive Speicherung im Fettgewebe nachgewiesen werden. Bei der Prüfung über das Verhalten der natürlichen Oestrogene kamen Greenblatt und Brown (43) sowie Vague und Garrigues (68) zu unterschiedlichen Resultaten. Greenblatt und Brown untersuchten nach Verabreichung von Oestron, Oestroneulfat und Oestradiol bei Laparotomien aus der Subcutis gewonnenes Fettgewebe von Frauen. Sie fanden im Mäuseuterustest jeweils nur geringe biologische Aktivität. Dagegen konnten Vague und Garrigues mit chemischen Methoden hohe Konzentrationen in Form von Kober - Chromogenen im Fettgewebe nachweisen.

Durch die geringe Zahl der bisher hierzu vorliegenden Untersuchungen am Menschen kann noch nichts Endgültiges über die Bedeutung der Speicherung von Oestrogenen im Fettgewebe ausgesagt werden.

3. Zwischenstoffwechsel der Oestrogene:

Für die Funktion der biologisch aktiven Hormone als Regulatoren ist ihre Ausschaltung als Wirkstoff eine wichtige Voraussetzung (30). Dem Organismus stehen hierfür folgende Möglichkeiten zur Verfügung:

1. Metabolisierung zu biologisch geringer wirksamen Formen.
2. Abbau zu niedermolekularen inaktiven Verbindungen.
3. Konjugierung mit Schwefel- und Glucuronsäure.
4. Ausscheidung der konjugierten Oestrogene mit Harn und Faeces.

Eine zentrale Stellung nimmt die Leber bei diesen Inaktivierungsvorgängen ein. In ihr läuft der größte Teil des Oestrogenstoffwechsels ab, während andere Organe nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Die Umwandlung der Oestrogene ineinander ist seit längerer Zeit bekannt. So kann aus Oestron 17 β -Oestradiol und aus diesem wiederum Oestron entstehen. Außerdem ist der Organismus in der Lage, aus diesen beiden primären Ovarialhormonen Oestriol zu bilden, das als eines ihrer Stoffwechselprodukte angesehen wird.

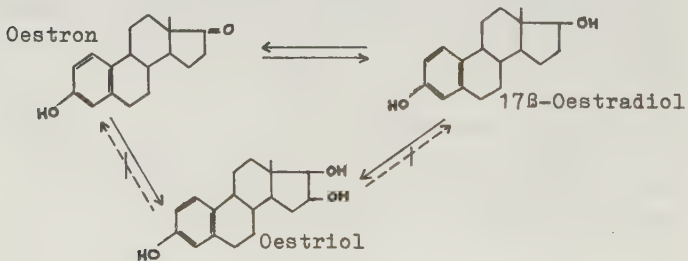


Abb. 2 Klassisches Umwandlungsschema von Oestron, Oestradiol und Oestriol im menschlichen Organismus (nach Diczfalusy)

Beer und Gallagher (7) konnten diese Metabolisierung mit Hilfe von radioaktiv markiertem Oestron und 17 β -

Oestradiol beweisen. Verschiedene Autoren konnten in fast allen Geweben die Umwandlung der Oestrogene ineinander zeigen. So Ryan und Engel (61) die Bildung von Oestron aus 17β -Oestradiol in Placenta, Leber, Ileum, Mamma u.a., sowie die Umwandlung von Oestron in 17β -Oestradiol im Hodengewebe. Die hierbei ablaufenden chemischen Reaktionen sind enzymatisch gesteuerte Dehydrierungs- bzw. Hydrierungsvorgänge. In welcher Richtung sie ablaufen, wird durch die Höhe der Enzymkonzentrationen in den einzelnen Geweben bestimmt. So kann z.B. die Leber leichter die Dehydrierung der 17 -Hydroxygruppe vornehmen, während Nieren- und Hodengewebe leichter Oestron in 17β -Oestradiol umwandeln können (32). Hierfür ist eine 17β -Dehydrogenase und die Anwesenheit von DPN als Wasserstoffacceptor notwendig (27). Dieses Enzym konnte bisher nicht aus menschlichen Geweben isoliert werden, wurde aber von Tomkins (67) aus Säugetierleber gewonnen.

Heusghem und Mitt. (48) wiesen außerdem durch Inkubation von C_{16}^{14} -markiertem Oestron mit Rattenleber 17β -Oestradiol und Oestriol nach. Bei den oben erwähnten Injektionsversuchen konnte Brown (13) ebenfalls die Umwandlung von Oestron und 17β -Oestradiol in Oestriol zeigen, indem er 45% der wiedergefundenen Oestrogene als Oestriol identifizierte. Diese Metabolisierung geschieht durch Einführung einer Hydroxylgruppe in das Steroidgerüst bei Anwesenheit einer 16α -Hydroxylase. Bemerkenswert ist, daß Oestriol nicht wieder in Oestron bzw. 17β -Oestradiol umgewandelt werden kann. Diese Tatsache läßt den Sinn der Metabolisierungsvorgänge erkennen. Die Einführung der Hydroxylgruppe bewirkt 1. eine Verbesserung der Was-

serlöslichkeit, die für die Ausscheidung im Harn von Bedeutung ist und 2. eine Änderung der biologischen Wirksamkeit, die beim Oestriol sehr viel geringer ist.

Eine geringere Rolle scheinen Abbauvorgänge zu spielen, die ebenfalls in der Leber, dem Zentralorgan des Oestrogenstoffwechsels, vor sich gehen. Heusghem und Mitt. (48) wiesen diesen Abbau der Oestrogene zu niedermolekularen biologisch inaktiven Verbindungen nach und zeigten, daß nach Inkubation von radioaktiv markiertem Oestron mit Rattenlebergewebe 0,7 - 4% der Aktivität als wasserlösliche Verbindungen vorlagen, die keinen Steroidcharakter mehr besaßen.

Von untergeordneter Bedeutung für die Inaktivierung der Oestrogene sind die Methylierung, sowie Oxydations- und Reduktionsprozesse. So konnten Loke und Mitt. (54) aus dem Harn schwangerer Frauen z.B. 2-Methoxy-Oestron isolieren. Neben den eben aufgezeigten Möglichkeiten der Inaktivierung steht dem Organismus noch die Konjugierung der Oestrogene zur Verfügung, die wiederum in der Hauptsache von der Leber vorgenommen wird (71).

Schon 1929 war Glimm und Wadehn (39) aufgefallen, daß die Oestrogene im Harn fast ausschließlich in einer wasserlöslichen Form vorlagen und sich erst nach Säurehydrolyse mit organischen Lösungsmitteln extrahieren ließen. Sie diskutierten damals eine Kopplung der Oestrogene an verschiedene Säuren. Bei der Klärung dieses Problems konnten Cohen und Bates (21) mit Hilfe einer Phenolsulfatase die Schwefelsäurebindung beweisen. Schließlich fand Oneson (59) die Konjugierung der Oestrogene mit Glucuronsäure, wobei auffiel, daß diese in der Schwangerschaft stark zunimmt.

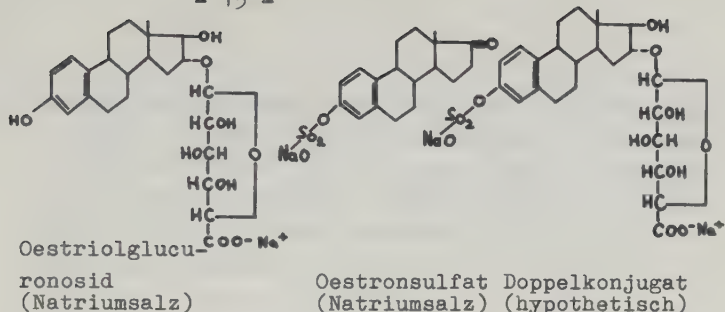


Abb. 3 Beispiele für die Konjugierung der Oestrogene
(nach Diczfalusy)

Für die Eliminierung der Oestrogene stehen dem Organismus zwei Möglichkeiten zur Verfügung:

1. Die Ausscheidung durch die Nieren mit dem Harn.
2. In geringerem Umfang die Ausscheidung über Galle und Darm.

Nach Untersuchungen von Beer und Gallagher (7) mit radioaktiv markiertem Oestron und 17β -Oestradiol werden 70 - 80% aller Oestrogene mit dem Harn ausgeschieden. Aufgrund von Belastungsversuchen kann angenommen werden, daß 10 - 20% der im Körper gebildeten Oestrogene in Form der drei "klassischen" Oestrogene mit dem Harn ausgeschieden werden (13). Bei den oben erwähnten Untersuchungen von Beer und Gallagher (7) fand sich ein geringer Teil der Aktivität in den Faeces wieder. Bei den von Sandberg und Slaunwhite (63) an Patienten mit Gallefisteln durchgeführten Untersuchungen mit radioaktiv markiertem Oestron und 17β -Oestradiol konnte nach kurzer Zeit 50% der

Aktivität in der Galle gemessen werden, wobei die Oestrogene in konjugierter Form vorlagen. Endgültig wurden mit den Faeces nur 7% der Aktivität ausgeschieden. Die hier zum größten Teil in freier Form vorliegenden Oestrogene ließen eine - wahrscheinlich von Bakterien stammende - β -Glucuronidase und Phenolsulfatase in den Faeces vermuten. Aufgrund der Tatsache, daß von der anfänglich hohen Konzentration in der Galle nur 7% in den Faeces erscheinen, kann auf eine Rückresorption durch den Dünndarm geschlossen werden, wobei die Oestrogene über den Pfortaderkreislauf erneut in die Leber gelangen und so denselben entero - hepatischen Kreislauf erfahren wie die Gallenfarbstoffe. Bemerkenswert ist der geringe Anteil an glucuronosidkonjugierten Metaboliten in der Galle gegenüber dem Urin, so daß die konjugierten Oestrogene möglicherweise im Darm zunächst hydrolysiert und als freie Oestrogene reabsorbiert werden. Hypothesisch sind Konjugierungsvorgänge mit Glucuronsäure in der Darmwand, wie sie von Hartiala und Mitt. (46, 53) bei in-vitro-Versuchen mit tierischen Geweben nachgewiesen werden konnten. Durch diesen kontinuierlichen entero - hepatischen Kreislauf ließe sich zum Teil die langsame Ausscheidung der Oestrogene erklären.

III. Methode zur chemischen Bestimmung der Oestrogene:

Bei den hier dargestellten Untersuchungen wurden die Oestrogene im Harn nach der von Brown, Bulbrook und Greenwood (14) angegebenen Methode bestimmt.

1. Grundlagen der Methode:

Wesentlicher Teil dieser chemischen Bestimmungsmethode ist die zuerst von Kober (50) angegebene Kolorimetrie, die auch in anderen Methoden zur Anwendung kommt. Kober hat eine von Wieland angegebene fluorimetrische Nachweisreaktion zu einer kolorimetrischen modifiziert: Durch Erhitzen eines Hormon - Schwefelsäure - Gemisches im kochenden Wasserbad entsteht ein grüngelblicher Farbkomplex, der nach Abkühlen und Verdünnung mit aqua dest. und durch erneutes Erhitzen eine klare rote Lösung mit grünlicher Fluoreszenz entstehen läßt. Durch Zusatz von Phenolsulfosäure konnte eine Verstärkung der Farbintensität bei gleichzeitigem Verschwinden der Fluoreszenz erreicht werden. Grundlage dieses Verfahrens ist das Reaktionsvermögen der phenolischen Steroide, mit starken Säuren einen Farbkomplex zu bilden, das 1954 von Pontius (60) beobachtet worden war. Nach Zimmermann (70) hat der Farbkomplex folgendes Aussehen:

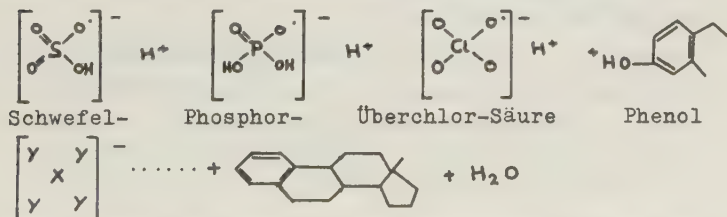


Abb. 4 Mögliche Reaktion der Oestrogene mit starken Säuren (nach Zimmermann)

Spezifität und Empfindlichkeit der Koberreaktion konnten durch die Untersuchungen von Marlow (55) bewiesen werden. Bei der früher üblichen Urinaufarbeitung wurde der Oestrogen - Schwefelsäure - Farbkomplex stets durch eine braune Hintergrundfarbe unangenehm überlagert, die durch Reaktion der Schwefelsäure mit Harnbestandteilen entstand. Genaue Ergebnisse waren daher nur zu erzielen, wenn im Harn mindestens 4,4 mg Oestrogene enthalten waren. Es ist das besondere Verdienst von Brown (12) und Bauld (4) durch wesentliche Verbesserung der Koberreaktion die Bestimmung von 0,1 - 0,2 μ g Oestrogene im Harn ermöglicht zu haben. Die von ihnen eingeführte Veränderung bestand darin, daß sie der Schwefelsäure anstelle der Phenolsulfosäure eine reduzierende Substanz, Hydrochinon, zusetzten. Dadurch lag das Absorptionsmaximum der Oestrogene in dieser Lösung in einem Bereich von 518 - 530 m μ , in dem die Fremdabsorption sehr gering war. Der bei der Koberreaktion gebildete Farbkomplex kann am Spektralphotometer gegen einen Reagentienleerwert gemessen werden, woraus sich die im Urinansatz enthaltenen Oestrogenmengen berechnen lassen. Durch Messung bei 3 Wellenlängen und Anwendung der Allen'schen Korrekturformel - $E_{\text{korrr}} = 2 \times E_2 - (E_1 + E_3)$ - konnten weitere Verfälschungen der Ergebnisse ausgeschaltet werden, die durch eventuell noch vorhandene Verunreinigungen möglich waren. Die Berechtigung, die Allen'sche Formel anzuwenden, wurde von Diczfalussy experimentell geprüft und bestätigt (28).

Die übrigen Arbeitsgänge dienen hauptsächlich der Reinigung und Trennung der einzelnen Oestrogene, um optimale Bedingungen für die Koberreaktion zu schaffen.

Da die Oestrogene im Harn zum größten Teil, wie schon erwähnt, in konjugierter Form vorliegen und deshalb nicht mit organischen Lösungsmitteln extrahierbar sind, muß zunächst eine Hydrolyse vorgenommen werden. Untersuchungen von Cohen und Marrian (22) und neuere Untersuchungen durch Marrian und Bauld (57) schufen die Voraussetzungen für eine möglichst vollständige Hydrolyse unter Vermeidung größerer Oestrogenverluste. Die anschließende Reinigung der Extrakte wird in dieser Methode nach den schon von Cohen und Marrian (22) sowie Glimm und Wadehn (39) angegebenen Vorschriften durchgeführt.

Zur Trennung der drei "klassischen" Oestrogene wird die Adsorptionschromatographie angewendet, die neben einer besonders schonenden Trennung der Oestrogene eine weitere Reinigung bewirkt. Bei diesem Verfahren werden Unterschiede in der Affinität vom Adsorbens zum adsorbierten Stoff für die Trennung ausgenutzt. Wesentlich ist, daß durch geringe Unterschiede in der chemischen Konstitution die Affinität und damit die Wanderungsgeschwindigkeit erheblich verändert wird. So können mit Hilfe der Adsorptionschromatographie chemisch sehr nahe verwandte Stoffe, wie es die drei "klassischen" Oestrogene sind, getrennt werden. Verbessert wurden die Adsorptionsbedingungen von Brown durch die Verwendung methylierter Oestrogene bei der Chromatographie.

2. Beschreibung der Methode:

a. Hydrolyse und Extraktion:

200 ml eines 24 - Std. - Harns werden am Rückfluß bis

zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von 30 ml konz. HCl kocht das Gemisch weitere 60 Min.

Anschließend wird das Hydrolysat sofort unter fließendem Wasser abgekühlt und durch einen Faltenfilter in einen Schütteltrichter filtriert. Kochflasche und Filter werden mit wenig aqua dest. nachgespült. Die Extraktion wird mit frisch destilliertem, peroxyd-freiem Aether durchgeführt:

1 mal mit 200 ml und 2 mal mit 100 ml Aether.

b. Reinigung der Extrakte:

Die Aetherextrakte werden in einem Schütteltrichter vereinigt und mit 80 ml gesättigter Natriumbicarbonatlösung mit einem pH von 10,5 ausgewaschen. Anschließend wird der Aetherextrakt mit 20 ml 8%iger Natronlauge kräftig durchgeschüttelt, nach Zugabe von 80 ml 8%iger Natriumbicarbonatlösung erneut kräftig geschüttelt und die wässrige Phase verworfen. Der Waschvorgang wird mit 20 ml 8%igem Natriumbicarbonat und mit 10 ml aqua dest. fortgesetzt. Das Wasser wird so vollständig wie möglich entfernt und der gereinigte Aetherextrakt in einen 500 ml - Schliffkolben filtriert. Schütteltrichter und Filter werden mit etwas Aether nachgespült.

Im Vakuum wird der Aether in einem Wasserbad auf 50 Grad C erhitzt und bis zur Trockene eingedampft. Der Trockenrückstand wird mit 1 ml aldehydfreiem, 96%igem Alkohol aufgenommen. Danach wird der Kolben unter fließendem Wasser abgekühlt. Der Kolbeninhalt wird quantitativ mit 25 ml Benzol in einen Schütteltrichter überführt, der 25 ml Petrolaether enthält. Es wird gut durchgeschüttelt und mit 2 mal 25 ml aqua dest. extrahiert. Diese wässrige Phase enthält die

Oestriolfraktion und wird von uns als A - Fraktion bezeichnet. Die Oestron - 17 β -Oestradiol - Fraktion wird durch zweimaliges Extrahieren mit 25 ml 1,6%iger Natronlauge gewonnen und als B - Fraktion bezeichnet. Die Extrakte werden in 100 ml - Erlenmeyerkolben mit Schliffstopfen überführt.

c. Methylierung:

Die vereinigten wässrigen Extrakte (A - Fraktion) werden mit 900 mg Borsäure und 4 ml 20%iger Natronlauge versetzt, die vereinigten Natronlaugenextrakte nur mit 900 mg Borsäure. Beiden Fraktionen wird 1 ml Dimethylsulfat zugesetzt. Danach wird bis zur vollständigen Durchmischung geschüttelt und 30 Min. im Schüttelthermostaten bei 37 Grad C inkubiert. Zu beiden Fraktionen werden nochmals 2 ml 20%ige Natronlauge und 1 ml Dimethylsulfat zugesetzt und nach gutem Durchschütteln wird erneut 30 Min. bei 37 Grad C inkubiert. Schließlich erhalten beide Fraktionen 10 ml 20%ige Natronlauge und 2,5 ml 30%iges Wasserstoff-superoxyd und werden wiederum gut durchgemischt.

Die A - Fraktion wird mit 25 ml Benzol und die B - Fraktion mit 25 ml Petrolaether quantitativ in je einen Schütteltrichter überführt. Nach mindestens 2 Min. langem, kräftigem Schütteln wird die wässrige Phase verworfen. Die organischen Phasen werden 2 mal mit 5 ml aqua dest. gewaschen. Nach vollständiger Entfernung des Wassers schließt sich die Chromatographie an.

d. Chromatographie:

In 2 Säulen werden je 2 g standardisiertes Aluminiumoxyd, für die A - Fraktion mit ca. 10 ml Benzol und für die B - Fraktion mit ca. 10 ml Petrolaether, luft-

blasenfrei eingeschwemmt und mit einer ca. 5 mm dicken Seesandschicht überdeckt. Sind die Lösungsmittel bis zur Höhe der Sandschicht abgelaufen, wird mit der eigentlichen Chromatographie begonnen.

In die 1. Säule wird der Benzolextrakt, in die 2. Säule der Petrolaetherextrakt gegeben. Nach Ablauf der Lösungsmittel wird mit folgenden Eluentien eluiert. Eluens 1 besteht aus 1,4% Aethanol in Benzol. Damit werden aus der A - Fraktion die Urinpigmente eluiert. Eluens 2 besteht aus 2,5% Aethanol in Benzol, womit anschließend das Methyloestriol eluiert wird. Eluens 3 enthält 25% Benzol in Petrolaether, hiermit wird eine Pigmentschicht aus der B - Fraktion gewonnen. Mit 40% Benzol in Petrolaether (Eluens 4) eluiert man das Methyloestron und eine weitere Pigmentschicht. Mit Eluens 5 - reines Benzol - gewinnt man den 17 β -Oestradiolmethylaether.

Die Mengen der einzelnen Eluentien werden durch Testversuche festgelegt. Sie werden je nach Adsorptionseigenschaften des standardisierten Aluminiumoxyds modifiziert. Wichtig ist, daß die Schnitte zwischen den einzelnen Eluat en möglichst weit auseinander liegen. Über die Aufstellung eines solchen Elutionsschemas wird später noch berichtet.

e. Koberreaktion:

Alle 3 Oestrogenfraktionen werden mit 0,2 ml 2%iger aethanolischer Hydrochinonlösung versetzt und im Vakuum bis zur Trockene eingedampft. Durch Einstrom von Stickstoff wird anschließend das Vakuum beseitigt. Die Trockenrückstände der Säuleneluate werden mit 3 ml (Oestriol - Fraktion mit 2,6 ml) der entsprechenden Koberreagentien versetzt und 20 Min. in siedendem Was-

serbad erhitzt. Innerhalb der ersten 6 Min. werden alle Röhrchen 2 mal gut durchgeschüttelt. Nach Abkühlen der Röhrchen in kaltem Wasserbad wird das Methyl-oestriolkoberchromogen - KC I - mit 1,4 ml aqua dest., das Methyloestronkoberchromogen - KC II - mit 0,5 ml aqua dest. und das 17 β -Oestradiolmethylaetherkoberchromogen - KC III - mit 0,2 ml aqua dest. versetzt. Nach gutem Durchschütteln werden KC I und KC II 14 Min. und KC III 20 Min. erneut in siedendem Wasserbad erhitzt. Danach wird ca. 10 Min. in kaltem Wasser abgekühlt. Es folgt die Messung am Spektralphotometer - Zeiss PMQ II - gegen einen Reagentienleerwert, der den Trockenrückstand von 0,2 ml Hydrochinonlösung und 3 ml des entsprechenden Koberreagens enthält. Gemessen wird bei folgenden Wellenlängen:

	E ₁	E ₂	E ₃
KC I	480 mp	516 mp	552 mp
KC II	480 mp	516 mp	552 mp
KC III	480 mp	521 mp	562 mp

Die korrigierten Extinktionen erhält man mit Hilfe der Allen'schen Korrekturformel: $E_{\text{kor}} = 2 \times E_2 - (E_1 + E_3)$. Zur Berechnung der im Tagesurin enthaltenen Oestrogenmengen müssen die korrigierten Extinktionen mit dem Tagesfaktor (F_d) multipliziert werden. Dieser ist der Quotient aus dem Gesamtvolumen des 24 - Std. - Urins und dem zur Analyse verwendeten Volumen. Die 24 - Std. - Urine wurden auf 1200 ml verdünnt, um für den Tagesfaktor ganze Zahlen zu erhalten.

Anschließend wird mit einem Standardfaktor (F_{St}) multipliziert, der folgendermaßen errechnet wird: Die Molekulargewichte der freien Oestrogene werden durch die Molekulargewichte der entsprechenden Oestrogen - Methylaether dividiert.

$$\text{Für KC I} \quad \frac{288.37}{302.396} = 0.954$$

$$\text{Für KC II} \quad \frac{270.36}{284.386} = 0.951$$

$$\text{Für KC III} \quad \frac{272.37}{286.396} = 0.951$$

Diese Zahlen werden nochmals durch die korrigierten Extinktionen dividiert, die für je 10 µg der reinen Oestrogen - Methyläther in der Koberreaktion berechnet werden (Standardextinktion = E_{St}).

Für KC I ergibt sich bei einer E_{St} von 0.311 ein

$$F_{St} = \frac{0.954}{0.311} = 3.06$$

Für KC II ergibt sich bei einer E_{St} von 0.310 ein

$$F_{St} = \frac{0.951}{0.310} = 3.07$$

Für KC III ergibt sich bei einer E_{St} von 0.378 ein

$$F_{St} = \frac{0.951}{0.378} = 2.52$$

Die hier errechneten Standardfaktoren gelten nur für die jeweilige Schwefelsäurecharge und müssen bei jedem Ansatz neuer Koberreagentien wieder bestimmt werden.

Auf eine kurze Formel gebracht erhält man die im Tagesurin vorhandene Oestrogenmenge folgendermaßen:

$$\text{Oestrogenmenge in } \mu\text{g/die} = E_{\text{korr}} \times F_d \times F_{St}$$

3. Materialien:

Diaethyläther, p.a., peroxydfrei:

DAB₆-Aether wurde über einer Widmar - Kolonne (800 mm) 2 mal destilliert und in braunen Flaschen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Am Verwendungstag wurde der Aether nochmals destilliert und sofort verwendet.

Petrolaether, Siedepunkt 40 - 60° C, p.a.

Benzol, p.a.:

Beide Substanzen wurden über einer Widmar - Kolonne 2 mal destilliert und vor ihrer Verwendung als Eluens mit Wasser gesättigt.

Aethylalkohol, absolut, aldehydfrei:

96%iger Aethylalkohol wurde am Rückflußkühler über Natronlauge in Plättchenform 5 Std. gekocht und anschließend 2 mal destilliert, gut verschlossen, in kleinen Portionen abgefüllt und bei + 4 Grad C aufbewahrt.

Natronlauge, 8%ig und 20%ig;

Natriumbicarbonatlösung, 8%ig:

Beide Lösungen wurden aus p.a. Grundsubstanzen hergestellt.

Natriumbicarbonatlösung, konz. pH 10,5:

Diese Lösung wurde durch Mischen von 150 ml 20%iger Natronlauge und 1000 ml 8%iger Natriumbicarbonatlösung hergestellt.

Eluentien:

Eluens 1 1,4% abs. Aethylalkohol in Benzol

Eluens 2 2,5% abs. Aethylalkohol in Benzol

Eluens 3 25% Benzol in Petrolaether

Eluens 4 40% Benzol in Petrolaether

Eluens 5 reines Benzol

Aluminiumoxyd, Aktivitätsstufe II - III nach Brockmann:

Durch Zusatz von aqua dest. wurde es auf die gewünschte Aktivität gebracht.

Das Elutionsschema für neu verwendetes Aluminiumoxyd wurde wie folgt aufgestellt:

2 g mit aqua dest. deaktiviertes Aluminiumoxyd wurden mit Benzol in eine Chromatographiesäule mit einem inneren Durchmesser von 13 mm und einem Fassungsvermögen von 40 ml luftblasenfrei eingeschwemmt. Die Säulen waren nach unten mit einer Glasfritte der Porengröße G 4 verschlossen.

Mit 25 ml Benzol wurden 10 µg Methyloestriol auf die Säule gegeben. In 2 ml - Portionen wurde mit Eluens 1 eluiert und jede Probe kolorimetrisch bestimmt. Im 9. - 10. ml erschien das Oestriol. Nun wurde auf einer 2. ebenso präparierten Säule mit 5 ml Eluens 1 die Vorfraktion, die eine Urinpigmentschicht enthalten soll, gebildet und mit Eluens 2 in 2 ml - Portionen weitereluiert. Mit dem 10. ml war das gesamte Oestriol eluiert, so daß für Eluens 2 eine Menge von 15 ml festgelegt wurde.

In gleicher Weise wurde das Elutionsschema für die Chromatographie von Methyloestron und 17β-Oestradiol-methyläther aufgestellt: In eine Säule wurden 2 g Aluminiumoxyd mit Petroläther eingeschwemmt und anschließend 10 µg methyliertes Oestron in 25 ml Petroläther daraufgegeben. Mit Eluens 3 wurden 2 ml - Portionen eluiert und colorimetrisch bestimmt bis mit dem 17. - 18. ml das Methyloestron erschien. Auf einer weiteren Säule wurde mit 12 ml Eluens 3 die Vorfraktion gebildet und danach mit Eluens 4 gearbeitet. Nach 16 ml war das gesamte Methyloestron erschienen, so daß für diese Fraktion 20 ml festgelegt wurden. Ein Gemisch von Methyloestron und 17β-Oestradiolmethyläther wurde anschließend auf eine dritte Säule aufgetragen. Nach Bildung der Vorfraktion mit Eluens 3 und Gewinnung des Methyloestron mit 20 ml Eluens 4 wurde mit demselben in 2 ml - Portionen weitereluiert.

Das 17 β -Oestradiol erschien im 12. ml. Für diese Zwischenfraktion, die weitere Urinpigmente enthält, wurden deshalb 8 ml festgelegt. Mit Benzol (Eluens 5) wurde nun solange eluiert, bis der ganze 17 β -Oestradiolmethylaether nach 12 ml darin enthalten war. Das Elutionsschema hat somit folgendes Aussehen:

A. Oestriol - Fraktion:

- 5 ml Eluens 1 (verwerfen, Pigmentfraktion)
- 15 ml Eluens 2 (auffangen, Methyloestriol)

B. Oestron - Oestradiol - Fraktion:

- 12 ml Eluens 3 (verwerfen, Pigmentfraktion)
- 20 ml Eluens 4 (auffangen, Methyloestron)
- 8 ml Eluens 4 (verwerfen, Pigmentfraktion)
- 15 ml Eluens 5 (auffangen, Methyloestradiol)

Auf diese Weise wurden jeweils 300 g Aluminiumoxyd standardisiert, die ca. 3 Monate ausreichten. Das Aluminiumoxyd wurde sorgfältig luftdicht verschlossen und bei Zimmertemperatur gelagert. Für den wöchentlichen Bedarf wurde es in kleinere Behälter abgefüllt. Koberreagentien:

Sie wurden aus Schwefelsäure, 96 - 98%ig, p.a. und Hydrochinon hergestellt:

Für Oestriol 76%ige Schwefelsäure und 2% Hydrochinon,
für Oestron 66%ige Schwefelsäure und 2% Hydrochinon,
für Oestradiol 60%ige Schwefelsäure und 2% Hydrochinon.
Die Reagentien wurden 8 Tage vor ihrer Verwendung eingesetzt und im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt.
Testsubstanzen:

Stammlösungen wurden durch Lösen von 100 mg der Oestrogene in 100 ml abs. Alkohol hergestellt.

Eichlösungen (1 mg%ige und 5 mg%ige) wurden durch Verdünnung der Stammlösungen mit abs. Alkohol hergestellt. Alle Lösungen wurden bei + 4 Grad C gelagert.

Die aufgeführten Materialien wurden von der Fa. Merck und der Fa. Riedel de Haen bezogen.

Injektionspräparat:

Reines Oestriol der Fa. Organon:

Ampullen zu 10mg/ml (Res. P 2608)

Teilchengröße 40 ± 10 / 10 Gesichtsfelder,

Ampullen zu 50 mg/ml (Res. P 2609)

Teilchengröße 40 ± 12 / 10 Gesichtsfelder.

Suspensionsflüssigkeit: Benzylalkohol, CMC, Tween und ein Puffer.

Reinigung der Glasgeräte:

Spülen mit aqua dest. und Nachspülen mit Alkohol und Aether. Bei Verwendung von Chromschwefelsäure wurden Chromverunreinigungen nach Spülen mit heißem Wasser durch eine wässrige 0,2%ige Natriumsulfitlösung, die mit Schwefelsäure angesäuert war, vor dem oben beschriebenen Waschvorgang entfernt. Die gesammelten 24 - Std. - Urinportionen wurden in PVC - Flaschen ohne konservierenden Zusatz bei - 20 Grad C eingefroren und bis zur Analyse aufgehoben.

4. Zuverlässigkeitskriterien:

Diese bestehen in dem Nachweis der Richtigkeit, Genauigkeit, Empfindlichkeit und Spezifität der Methode. Für die oben beschriebene Methode wurden die Zuverlässigkeitskriterien von Brown, Bulbrook und Greenwood (14) untersucht und in ausreichendem Maße als erfüllt befunden.

a. Die Richtigkeit:

Sie wird durch eine größere Zahl von Wiederfindungsversuchen geprüft, wobei mit geringen Verlusten an

zugesetzter Substanz bei den verschiedenen Arbeitsgängen der Methode zu rechnen ist. Es wurden zum Beweis der Richtigkeit eigene Wiederfindungsversuche durchgeführt. Durch Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren konnten außerdem das eigene quantitative Arbeiten und die Brauchbarkeit der Reagentien überprüft werden. Dem Urin wurden nach der Hydrolyse bei 10 Versuchen je 10 µg und bei 13 Versuchen je 20 µg Oestriol in freier Form zugesetzt. Da die Oestrogene im Urin in konjugierter Form vorliegen, wäre ein Zusatz der freien Oestrogene vor der Hydrolyse nicht sinnvoll. Tab. 1 zeigt die Ergebnisse eigener Wiederfindungsversuche im Vergleich mit den von Brown und Bauld angegebenen Werten.

Tab. 1 Eigene Wiederfindungsergebnisse mit der von Brown, Bulbrook und Greenwood angegebenen Methode.

Zum Vergleich einige von Brown und Bauld mitgeteilte Werte.

Die prozentuale Standardabweichung wurde berechnet nach der Formel:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum a^2}{N} - \left(\frac{\sum a}{N}\right)^2} \quad C = 100 \cdot \frac{\sigma}{M}$$

Verfasser	Methode	Anzahl der Bestimmungen	Zugesetzte Menge pro Ansatz in µg	Wiedergefundene Menge Oestriol in % ± Standardabweichung
Eigene Bestimmungen	Brown u. Mitt. 57	10	10	89,6 ± 5,1
		13	20	84,2 ± 7,5
Brown 55	Brown 55	12	4 - 7	88 ± 12
		12	25 - 35	85 ± 4
		13	36 - 60	83 ± 3
Bauld 55	Bauld 55	16	5 - 10	87 ± 8
		12	50	85 ± 5

Die Tabelle zeigt, daß die eigenen Ergebnisse im Bereich der von Brown und Bauld angegebenen Werte liegen.

b. Die Genauigkeit:

Diese wird durch wiederholte Bestimmungen aus einer Urinportion geprüft, gewöhnlich an Hand von Doppelbestimmungen, die ein Maß für das exakte Arbeiten darstellen. In der vorliegenden Arbeit wurden 65 Doppelbestimmungen in allen Konzentrationsbereichen vorgenommen, s. Tab. 2.

Tab. 2 Ergebnisse von Doppelbestimmungen

Die Standardabweichung wurde nach folgender Formel berechnet: $Sd = \sqrt{\frac{S(d^2)}{2N}}$ (Snedicor)
N = Anzahl der Doppelbest. d = Differenz zweier Proben

N	Konzentrationsbereich in µg Oestriol / die	Standardabweichung	
		µg/die	%
65	3 - 5000	± 9,92	± 1,04

c. Empfindlichkeit:

Sie wird angegeben durch die Menge eines Stoffes im Ansatz, die sich signifikant von Null unterscheidet. Geprüft wird sie durch Wiederfindungsversuche mit kleinsten Mengen des zu bestimmenden Stoffes. Eigene Versuche wurden nicht durchgeführt. Von den Autoren wird angegeben, daß sich noch 0,1 - 0,2 µg mit dieser Methode bestimmen lassen.

d. Spezifität:

Von Breuer (10) sowie Bulbrook und Mitt. (17) wurden zu den chemischen Untersuchungen Vergleichsbestimmungen mit biologischen Methoden durchgeführt. Sie konnten zeigen, daß die mit der Brown'schen Methode gemessenen Oestrogene der biologischen Aktivität entsprechen.

IV. Eigene Untersuchungen:

Für die Durchführung der Untersuchungen wurde nach folgendem Plan vorgegangen:

Bei 10 Frauen wurden vor der intramuskulären Injektion des Oestriolpräparates, das uns freundlicherweise von der Fa. Organon zur Verfügung gestellt worden war (siehe Seite 26), 1 - 2 24 - Std. - Harn gesammelt und darin die Oestrogenkonzentration als Ausgangswert bestimmt. Injiziert wurden danach 10 - 100 mg Oestriol. Anschließend wurden in den folgenden 24 - Std. - Harnen die Veränderungen in der Oestriolkonzentration möglichst bis zum Erreichen des Ausgangswertes geprüft.

Über das Krankengut und die Dosis der Oestriolinjektion gibt Tab. 3 Auskunft.

Frauen und Personal wurden über die Technik des Harnsammelns belehrt und von mir ständig überprüft.

Die Mitbestimmung von Kochsalz und Kreatinin zur Kontrolle des vollständigen Harnsammelns wurde fallengelassen, da bei der Art des Krankengutes Veränderungen in der Kreatinin- und Kochsalzkonzentration möglich erschienen.

Daß trotz intensiven Bemühens Sammelfehler vorgekommen sind, erscheint wahrscheinlich. Die statistische Kalkulation, die im folgenden noch erörtert werden soll, ergab jedoch, daß die Sammelfehler für die vorliegende Fragestellung ohne ausschlaggebenden Einfluß auf die Ergebnisse blieben.

Auf die routinemäßige Mitbestimmung von Oestron und Oestradiol wurde verzichtet, da Veränderungen in der Ausscheidung dieser Hormone nicht zu erwarten waren. Durch die Injektionsversuche von Brown (13) ist bekannt, daß nach Oestriolinjektion nur Oestriol im Harn wiedergefunden wird. Gelegentliche Kontrollen der Oestron- und Oestradiolausscheidung bestätigten dies.

Tab. 3 Übersicht über das Krankengut und die jeweils injizierte Oestrioldosis

Versuch Nr.	Journal- Nr.	Alter	Klinische Diagnose	Therapie	Oestriol- dosis
1	91/62	40 J	Collum-Ca III	Radium-Rö- Bestrahlung	100 mg
2	1468/61	52 J	Vaginal-Ca	Radium-Rö- Bestrahlung	100 mg
3	1466/61	36 J	Vaginal-Ca	Radium-Rö- Bestrahlung	50 mg
4	1433/61	49 J	Bestrahltes Collum-Ca III	Leistendrüsen- ausräumung, Nachbestrahl.	50 mg
5	853/62	49 J	Collum-Ca II Hypertonus	Vaginale tota- le sine adnexe	50 mg
6	766/62	40 J	Collum-Ca III	Radium-Rö- Bestrahlung	50 mg
7	975/61	65 J	Klitoris-Ca	Radikale Vul- vaexstirpation bds. Leisten- drüsenausräu- mung, Rö-Nach- bestrahlung	20 mg
8	600/62	24 J	Ascend. Pelveo- peritonitis mit Adnextumor	Antibiotika Kurzwellen	20 mg
9	612/62	34 J	Sekundäre ovari- elle Amenorrhoe	Stationäre Diagnostik, Gonadotropin- kur üb.4 Wch.	10 mg
10	357/62	71 J	Collum-Ca II Diabetes mellitus	Radium-Rö- Bestrahlung	10 mg

Ergebnisse:

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt für jeden Fall einzeln. In den Abbildungen 5 - 14 wurden für jeden Fall 2 Kurven gezeichnet. In der ersten Kurve - im folgenden Text mit a bezeichnet - wurden die täglich wiedergefundenen Oestriolmengen nach Abzug des Vorwertes in μg aufgetragen. Ihrem Charakter nach ist sie eine linearverlaufende, absteigende Kurve, wenn von gelegentlichen Abweichungen nach oben und unten abgesehen wird. Hierfür wurde ein logarithmischer Maßstab gewählt. In der zweiten Kurve - im folgenden Text mit b bezeichnet - sind die täglich wiedergefundenen Oestriolmengen summiert und in % der injizierten Dosis dargestellt. Die Verwendung eines linearen Maßstabes erschien hier vorteilhaft. Einen Überblick über die Ergebnisse aller untersuchten Fälle gibt die Tab. 4.

Besprechung des Versuches Nr. 1:

Von 100 mg injiziertem Oestriol konnten nach 27 Tagen 34,9% im Harn wiedergefunden werden. Die Basisausscheidung von 0,81% ist hierbei abgezogen. Da vor unseren Untersuchungen ein regelmäßiger Menstruationszyklus bestand, lag der Ausgangswert, der 14 Tage nach der letzten Menstruation bestimmt worden war, mit 29,9 μg erwartungsgemäß hoch. Es muß angenommen werden, daß die aus eigener Produktion stammende Oestriolausscheidung im Verlaufe unserer Untersuchungen durch die Radium - Röntgenbestrahlung geringer geworden ist. Dieser Wert entspricht 0,03% der injizierten Dosis, so daß dadurch das Ergebnis nur unerheblich beeinflusst wird.

Die Abbildung 5 zeigt die größte Ausscheidung am 2. Tag.

Anschließend fällt die Ausscheidung bis zum 27. Tag langsam auf einen Wert von 530 μg ab. Dieser liegt noch erheblich über dem Kontrollwert. Bei Harnsammlung bis zum Erreichen des Ausgangswertes müßte die Oestriolwiederfindungsquote wesentlich höher angenommen werden. Die hierzu angestellten Kalkulationen werden später erörtert und sind in der Tab. 4 mitberücksichtigt.

Besprechung des Versuches Nr. 2:

Nach 17 Tagen waren im Harn 38,8% der injizierten Oestrioldosis von 100 mg wiedergefunden worden. Als Ausgangswert wurden durchschnittlich 2,3 $\mu\text{g}/\text{die}$ gemessen. Da die Menopause 9 Jahre zurück lag, war mit einer Veränderung in der Basisausscheidung durch die Bestrahlung nicht zu rechnen. Während der Sammelperiode traten an 7 Tagen infolge der Bestrahlung Diarrhoen auf, wodurch geringe Verluste beim Harnsammeln zu erklären sind.

In Abbildung 6 ist der Verlauf graphisch dargestellt. Wie im ersten Versuch findet sich der höchste Wert am 2. Tag. Nach einem kontinuierlichen Abfall werden am 17. Tag noch 469 μg Oestriol ausgeschieden. Eine weitere Verfolgung der Ausscheidung, wodurch eine höhere Ausbeute erzielt worden wäre, war uns nicht möglich.

Besprechung des Versuches Nr. 3:

Die Ausscheidung von Oestriol wurde 23 Tage lang verfolgt, wobei von 50 mg injiziertem Oestriol 34,9% wiedergefunden wurden. Die tatsächliche Ausbeute dürfte um ca. 1% höher liegen, da für die Basisausscheidung ein Wert von 23,2 $\mu\text{g}/\text{die}$ zugrunde gelegt wurde, der 2 Wochen nach der letzten Menstruation bestimmt worden war. Ein Rück-

gang der Eigenproduktion durch die Bestrahlung ist demnach sehr wahrscheinlich. Die in Abbildung 7 aufgetragenen Ergebnisse zeigen einen ähnlichen Kurvenverlauf wie bei den eben besprochenen Fällen.

Besprechung des Versuches Nr. 4:

Nach der Injektion von 50 mg Oestriol konnten nach 11 Tagen im Harn 26% wiedergefunden werden. Als Ausgangswert fanden wir im Durchschnitt 2,4 µg/die. Da vor 5 Monaten die Menopause eingetreten war, dürfte die Bestrahlung ohne Einfluß auf die Eigenproduktion der Oestrogene gewesen sein.

Der Verlauf der Ausscheidung ist aus der Abbildung 8 ersichtlich. Der Gipfel liegt am 2. Tag, worauf ein steiler, regelmäßiger Abfall erfolgt. Am 11. Tag waren nur noch 0,2% der injizierten Dosis im Harn nachweisbar. Der Endwert kann deshalb nur um wenigens höher liegen. Über das Phänomen der unterschiedlich schnellen Ausscheidung wird noch zu diskutieren sein.

Besprechung des Versuches Nr. 5:

Nach Injektion von 50 mg Oestriol wurde die Ausscheidung 34 Tage lang verfolgt. In den ersten 16 Tagen nach der Injektion konnte der Harn mit Hilfe eines Dauerkatheters gesammelt werden, der aus klinischer Indikation gelegt worden war. So konnten wir mit zuverlässig gesammelten Urinportionen arbeiten und eine hohe Wiederfindungsquote von 43,2% erzielen. Da der Ausgangswert mit 3,9 µg/die am 26. Tag nach der letzten Menstruation, also zur Zeit des praemenstruellen Minimums bestimmt worden war, muß angenommen werden, daß während der Untersuchun-

gen eine Erhöhung der Eigenausscheidung an Oestriol eingetreten ist. Dies würde jedoch im Verhältnis zu den injizierten 50 mg Oestriol prozentual kaum ins Gewicht fallen. Die in Abbildung 9 wiedergegebenen Ergebnisse zeigen einen sehr flach abfallenden Verlauf der Kurve a, wie das bei dem Versuch Nr. 1 beobachtet worden war. Selbst nach der ungewöhnlich langen Zeit von 34 Tagen konnten etwa noch 0,5% Oestriol wiedergefunden werden. Nach dem Kurvenverlauf läßt sich eine andauernde Ausscheidungsverzögerung vermuten.

Besprechung des Versuches Nr. 6:

Es wurden 50 mg Oestriol injiziert, wobei die Wiederfindungsquote aufgrund erheblicher Sammelfehler nur 17,7% betrug. Der Ausgangswert von 15,1 $\mu\text{g}/\text{die}$ wurde 12 Tage nach der letzten Menstruation bestimmt, so daß im Verlauf der Untersuchungen durch die Bestrahlung ein deutlicher Rückgang der Eigenausscheidung wahrscheinlich ist. Im Vergleich zur injizierten Dosis wird sich dies am Endergebnis kaum bemerkbar machen. Wenn wir diesen Fall trotz der erheblichen Verluste beim Harnsammeln ausgewertet haben, so deshalb, weil sich bei diesem Versuch eine ähnlich lange Ausscheidungsdauer nach der Oestriolinjektion ergab, wie sie bei den übrigen Fällen beobachtet worden war.

Der Verlauf ist aus der Abbildung 10 ersichtlich. Erstmals wurde am 27. Tag das Ausgangsniveau mit 14,1 μg sogar unterschritten. Da - wie oben erwähnt - die Eigenausscheidung an Oestriol geringer geworden ist, werden vermutlich noch einige Tage geringe Mengen des parenteral verabreichten Oestriols ausgeschieden.

Besprechung des Versuches Nr. 7:

Von 20 mg injiziertem Oestriol waren nach 13 Tagen 36,2% im Harn erschienen. Da die Menopause 19 Jahre zurück liegt, ist eine Veränderung in der Eigenausscheidung von 1,8 µg/die aufgrund der Bestrahlung nicht wahrscheinlich.

Die Abbildung 11 zeigt einen steilen Abfall der Oestriolausscheidung nach dem Höhepunkt am 2. Tag nach der Injektion. Bei Verfolgung der Ausscheidung bis zum Erreichen des Ausgangswertes wäre keine wesentlich höhere Ausbeute zu erwarten, da am 13. Tag nur noch 0,14% im Harn nachgewiesen werden konnten.

Besprechung des Versuches Nr. 8:

Die Oestriolausscheidung wurde nach der Injektion von 20 mg 17 Tage lang verfolgt. 34% wurden wiedergefunden. Als Ausgangswert wurden 1,8 µg/die Oestriol bestimmt. Da die Bestimmung 16 Tage nach der letzten regelmäßigen Menstruation stattgefunden hatte, war mit einem höheren Ausgangswert zu rechnen. Es stellte sich jedoch heraus, daß - vermutlich im Zusammenhang mit der Pelveoperitonitis - eine sekundäre ovarielle Amenorrhoe eingetreten war. Solange wir den Fall verfolgen konnten, war kein Ovulationszyklus mehr nachweisbar. Um einen Oestrogenanstieg während der Untersuchungen sicher auszuschließen, wurden am 1., 8. und 12. Tag nach der Injektion Oestron und 17β-Oestradiol mitbestimmt.

Abbildung 12 zeigt den Verlauf der Ausscheidung. Nach dem Gipfel am 2. Tag schließt sich ein regelmäßiger Abfall der Oestriolausscheidung an, die am 17. Tag nur noch 5 µg entsprechend 0,03% beträgt. Eine noch zu erwartende Wiedergefindung parenteral verabreichten Oestriols kann demnach vernachlässigt werden.

Besprechung des Versuches Nr. 9:

Die Injektionsdosis betrug 10 mg Oestriol. Die Basisausscheidung war wegen einer seit Jahren bestehenden sekundären ovariellen Amenorrhoe minimal und wurde mit 0,5 µg/die bestimmt. Die Wiederfindungsquote war dagegen nach 18 Tagen sehr hoch, sie lag bei 50,6%. Es ist anzunehmen, daß es aufgrund der Therapie zu einer Erhöhung der Eigenproduktion der Oestrogene gekommen war, welche die Wiederfindungsquote beeinflußt hat. Diese Annahme wird durch einen Anstieg der Basaltemperaturkurve am 14. Tag nach der Oestriolinjektion gestützt.

Die in Abbildung 13 dargestellte Kurve a verläuft nach einem Maximum am 1. Tag nach der Injektion bis zum 13. Tag gleichmäßig abfallend und zeigt danach Werte, die sämtlich über der Ausscheidung des 13. Tages liegen. Beide Tatsachen legen die Vermutung nahe, daß am 14. Tag die Erhöhung der Eigenproduktion der Oestrogene begann. Sie muß die Wiederfindungsquote um ca. 1 - 2 % erhöht haben, da bis zum 13. Tag bereits 48,5% wiedergefunden worden waren.

Besprechung des Versuches Nr. 10:

Wiederum wurden 10 mg Oestriol injiziert, von denen nach 18 Tagen 31,3% wiedergefunden werden konnten. Eine Änderung in der Eigenausscheidung von 1,6 µg/die durch die Bestrahlung kann außer acht gelassen werden, da die Menopause 24 Jahre zurück lag. Erwähnt sei, daß der Diabetes mellitus mit 2 x 1/2 Tabl. Rastinon gut eingestellt war. Während unserer Untersuchungen waren Zucker und Aceton im Harn nicht nachweisbar. Die Blutzuckerwerte schwankten zwischen 140 mg% und 170 mg%. Kleinere Sammelverluste

durch Diarrhoen, die während der Bestrahlung am 4. und 5. sowie 10. - 18. Tag unserer Untersuchungen aufgetreten waren, sind möglich.

Die Ergebnisse sind in der Abbildung 14 graphisch dargestellt. Die Oestriolwiederfindung ist wie im Versuch Nr. 9 am 1. Tag nach der Injektion am höchsten und fällt gleichmäßig bis zum 18. Tag auf $27,4 \mu\text{g}$ entsprechend 0,3% ab. Bei Verfolgung der Ausscheidung bis zum Erreichen des Ausgangswertes wäre eine etwas höhere Wiederfindungsquote möglich gewesen.

Tab. 4 Ergebnisse der Ausscheidung von Oestriol im Harn bei
10 Frauen nach parenteraler Verabreichung kristallinen Oestriols

Versuch Nr.	Oestriol- injektion in mg	Gewicht in kg	Oestriolwiederfindung in %		Dauer der Ausscheidung in Tagen		Ausscheidung von 75% in Tagen
			gemessen	kalkuliert	gemessen	kalkuliert	
1	100	71	34,9	45	27	75	25
2		50	38,8	51	17	34	12
3	50	65	34,9	40	23	34	11
4		45	26,0	30	11	12	5
5		79	43,2	62	34	110	35
6		65	17,7	20	27	20	5
7	20	70	36,2	37	13	18	5
8		54	34,0	34	17	12	5
9	10	62	50,6	50	18	12	4
10		61	31,3	35	18	25	7

+ Zeitpunkt an dem 99% der erreichbaren Oestriolmenge ausgeschieden sind

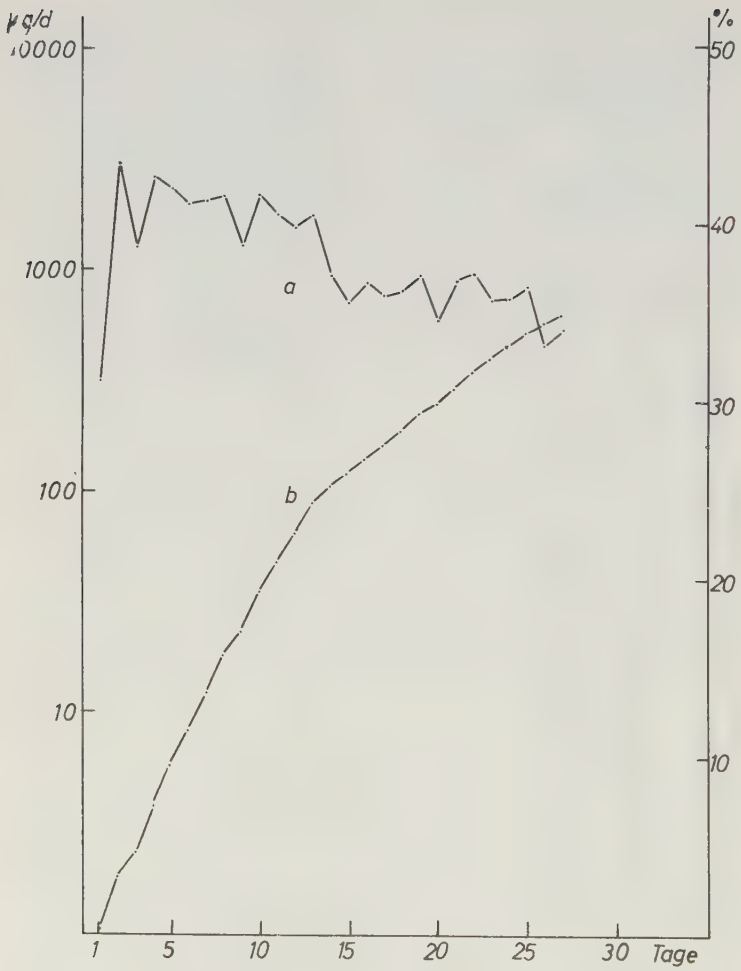


Abb. 5 Pat. F. S., Journal-Nr. 91/62.
Injektion von 100 mg Oestriol kristallin.
a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in $\mu\text{g/die}$
b = Gesamtwiederfindung von Oestriol angegeben in %
der injizierten Dosis.

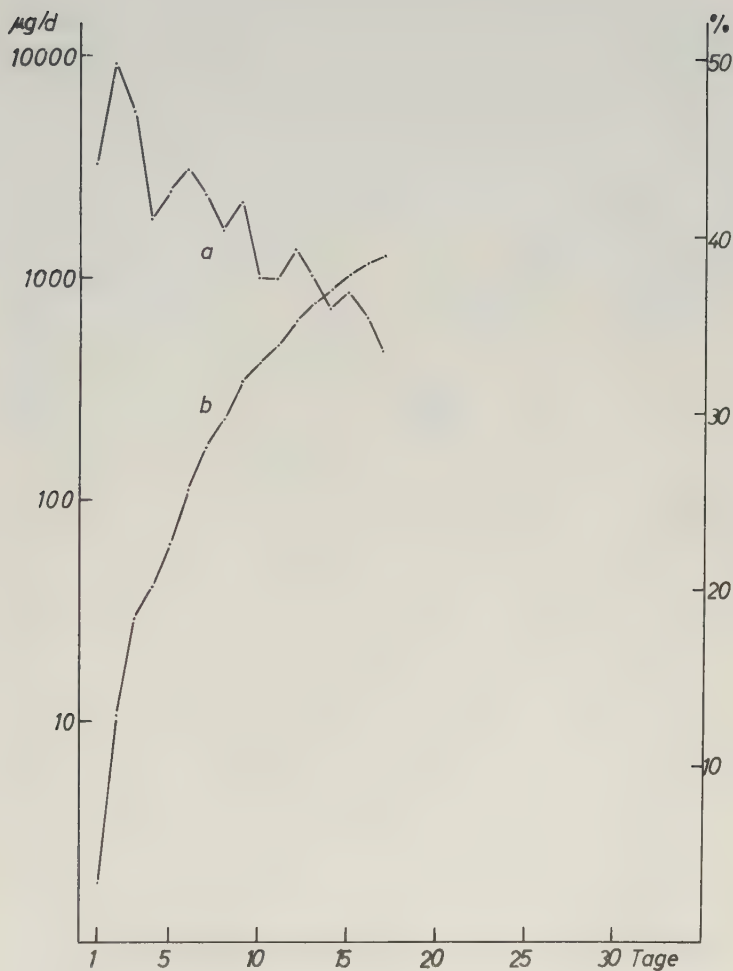


Abb. 6 Pat. M. S., Journal-Nr. 1468/61.
Injektion von 100 mg Oestriol kristallin.
a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in $\mu\text{g/die}$
b = Gesamtwiederfindung von Oestriol angegeben in %
der injizierten Dosis.

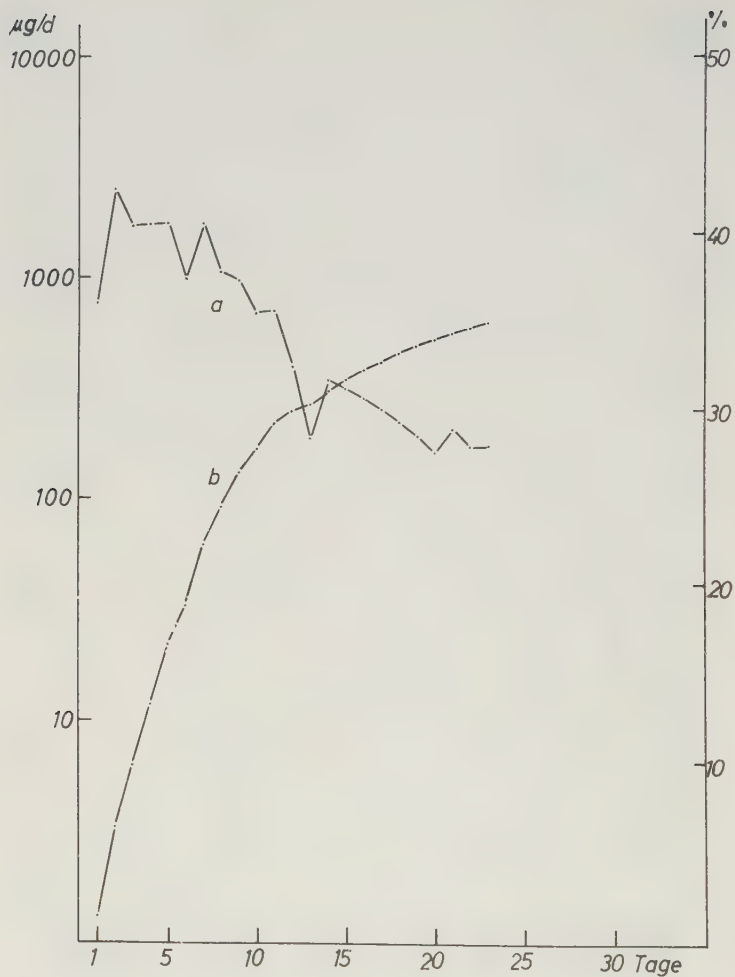


Abb. 7 Pat. A. E., Journal-Nr. 1466/61.
Injektion von 50 mg Oestriol kristallin.
a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in $\mu\text{g}/\text{die}$
b = Gesamtwiederfindung von Oestriol angegeben in %
der injizierten Dosis.

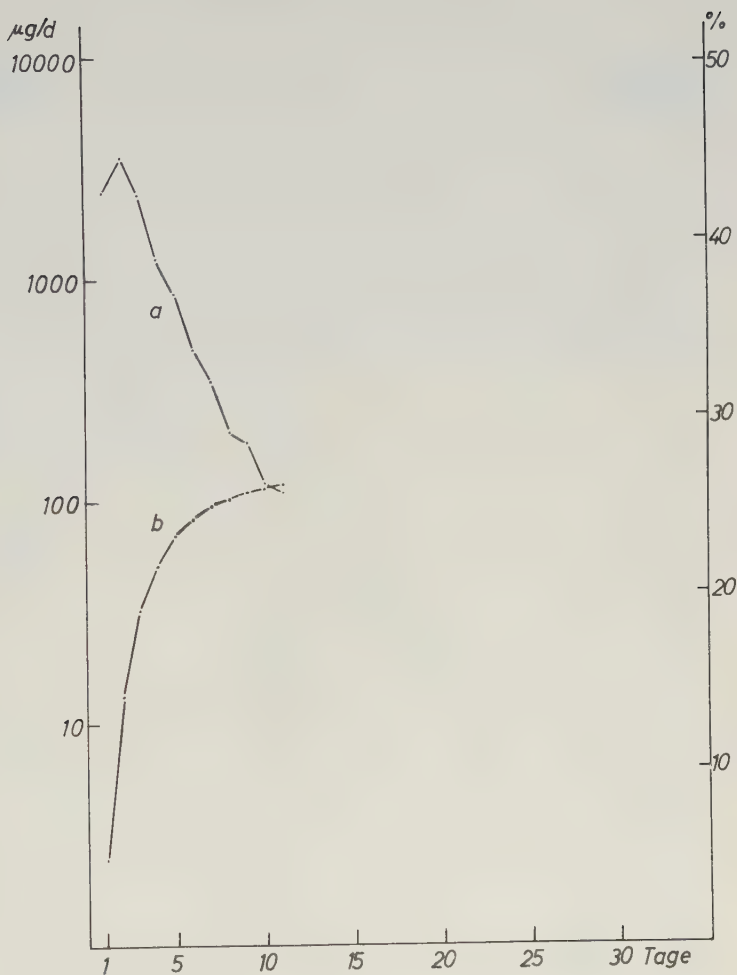


Abb. 8 Pat. A. L., Journal-Nr. 1433/61.
 Injektion von 50 mg Oestrione kristallin.
 a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in $\mu\text{g/die}$
 b = Gesamtwiederfindung von Oestrione angegeben in %
 der injizierten Dosis.

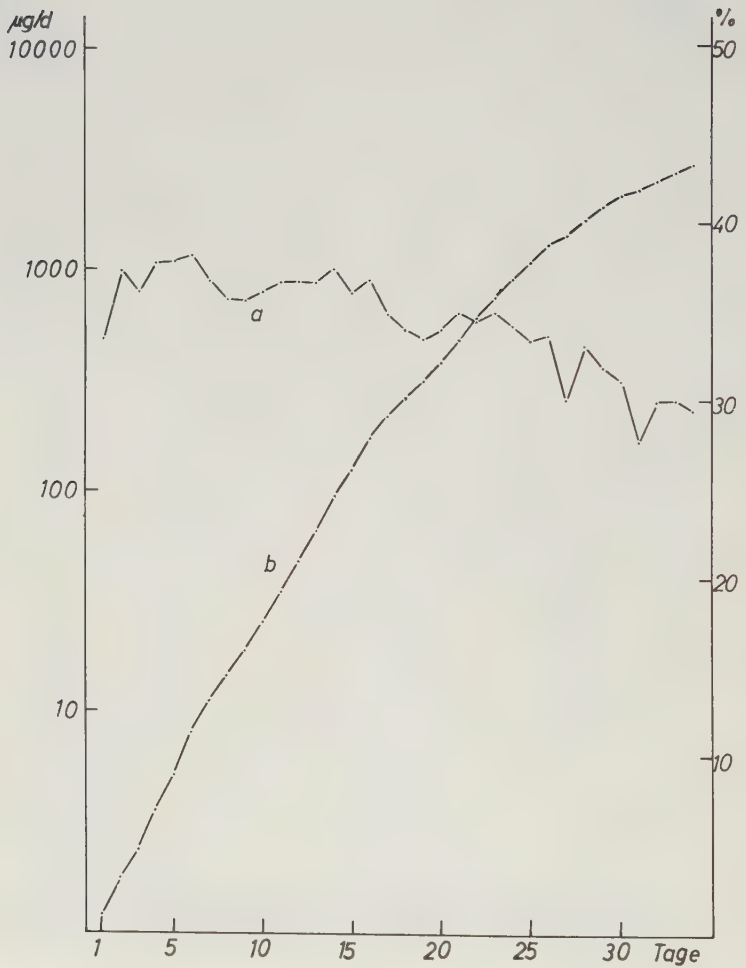


Abb. 9 Pat. R. Z., Journal-Nr. 853/62.
Injektion von 50 mg Oestriol kristallin.
a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in $\mu\text{g/die}$
b = Gesamtwiederfindung von Oestriol angegeben in %
der injizierten Dosis.

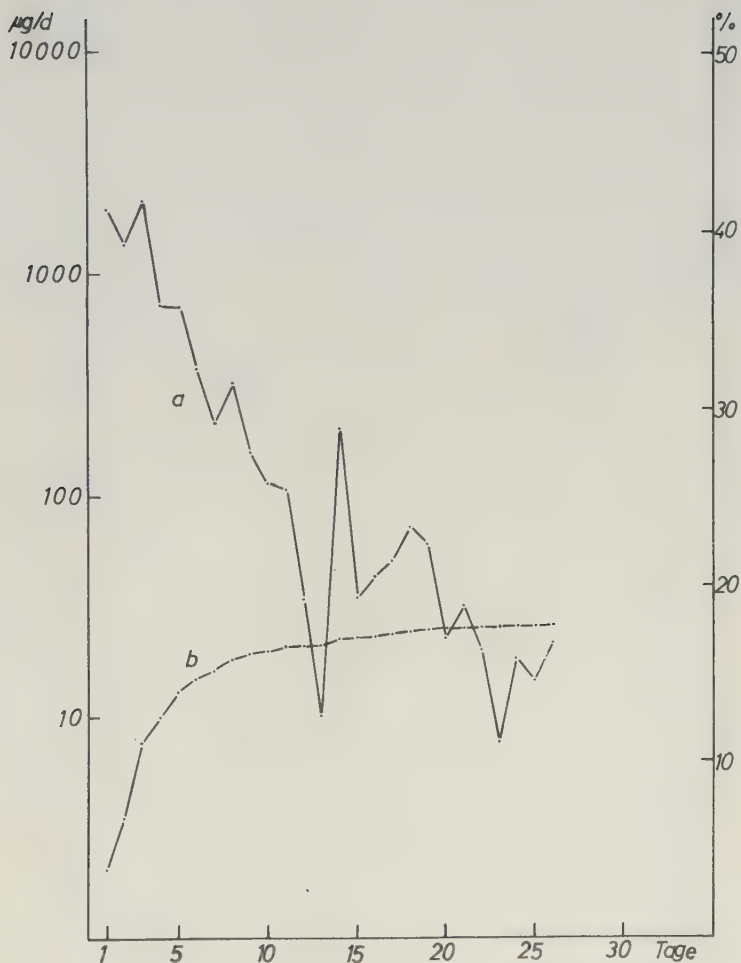


Abb. 10 Pat. A. T., Journal-Nr. 766/62.

Injektion von 50 mg Oestriol kristallin.

a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in $\mu\text{g/die}$

b = Gesamtwiederfindung von Oestriol angegeben in %
der injizierten Dosis.

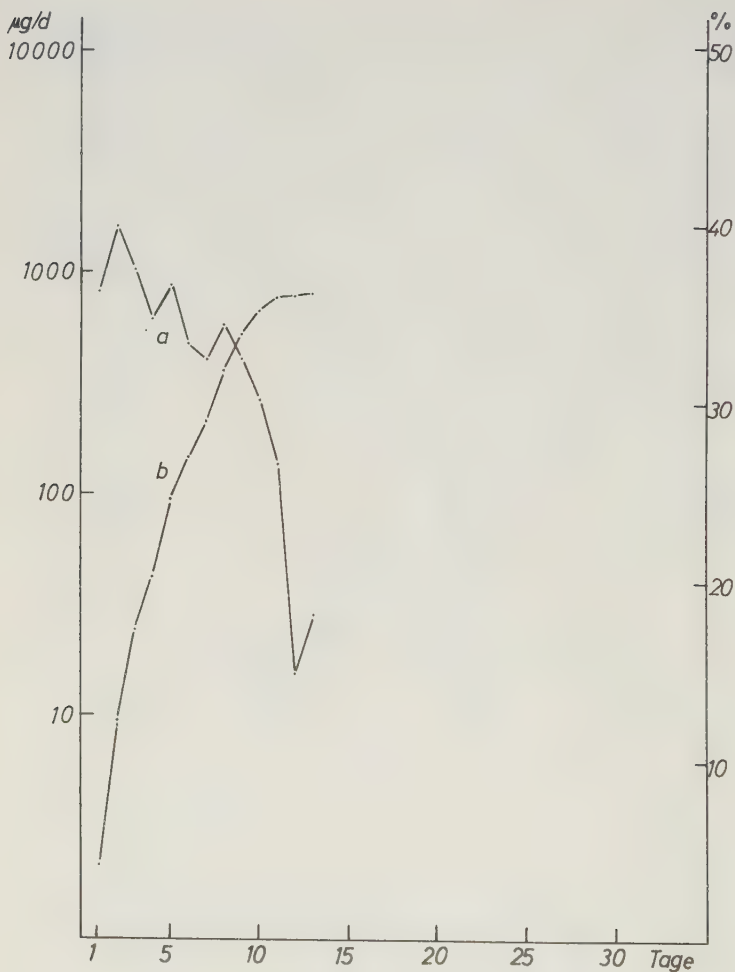


Abb. 11 Pat. E.B., Journal-Nr. 975/61

Injektion von 20 mg Oestriol kristallin.

a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in $\mu\text{g}/\text{die}$

b = Gesamtwiederfindung von Oestriol angegeben in %
der injizierten Dosis.

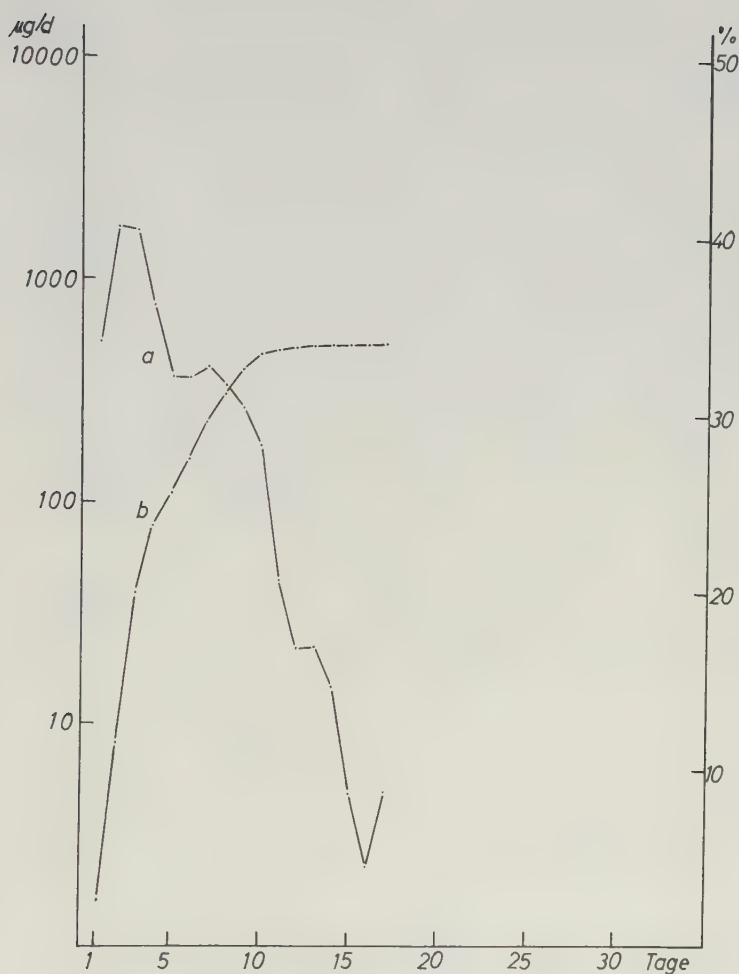


Abb. 12 Pat. M. L., Journal-Nr. 600/62.

Injektion von 20 mg Oestriol kristallin.

a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in $\mu\text{g}/\text{die}$

b = Gesamtwiederfindung von Oestriol angegeben in %
der injizierten Dosis.

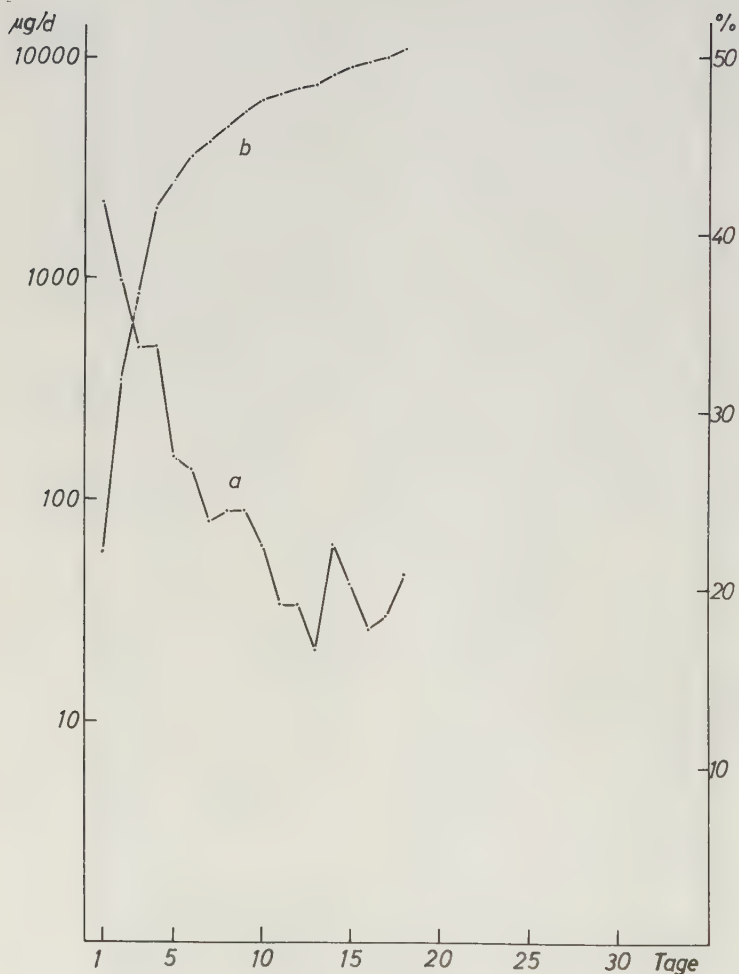


Abb. 13 Pat. B. R., Journal-Nr. 612/62.

Injektion von 10 mg Oestriol kristallin.

a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in $\mu\text{g/die}$

b = Gesamtwiederfindung von Oestriol angegeben in %
der injizierten Dosis.

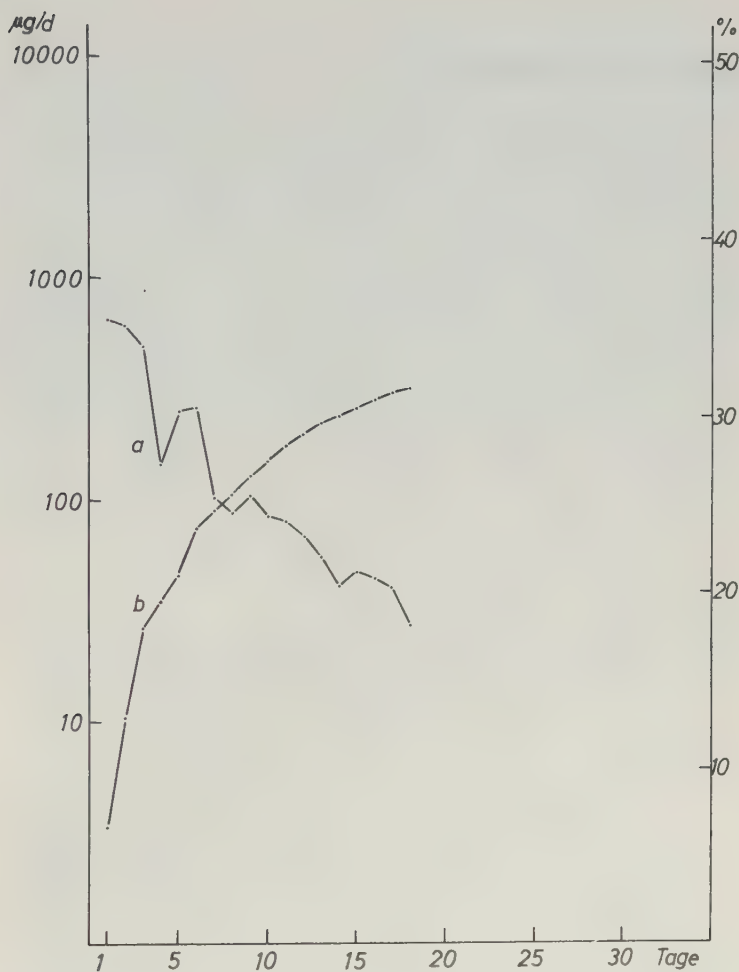


Abb. 14 Pat. K. H., Journal-Nr. 357/62.

Injektion von 10 mg Oestriol kristallin.

a = Verlauf der Oestriolausscheidung im Harn in µg/die

b = Gesamtwiederfindung von Oestriol angegeben in %
der injizierten Dosis.

V. Diskussion der Ergebnisse:

In der Arbeit sollte geprüft werden, in welcher Zeit und Größenordnung die Verabreichung kristallinen Oestriols die Harnausscheidung von Oestriol verändert. Wie die Einzelergebnisse und die in Tabelle 4 dargestellte Gesamtübersicht zeigen, ist das Auffälligste die erhebliche Ausscheidungsverzögerung, die bisher in diesem Maße nicht beobachtet worden war. So zeigten die Injektionsversuche von Brown (13), die allerdings nur mit 1 - 2 mg Oestriol durchgeführt worden waren, daß nach 4 - 9 Tagen das Ausgangsniveau im Harn wieder erreicht war. Obwohl wir bei einigen Fällen die Ausscheidung über sehr lange Zeit verfolgen konnten, war es nicht möglich, das Ausgangsniveau zu erreichen. So lag z.B. im Versuch Nr. 5 die Oestriolausscheidung bei einem Ausgangswert von 3,9 µg/die mit 231 µg am 34. Tag noch weit über der Eigenausscheidung. Mit Ausnahme der Fälle 8 und 9 wurde das Harnsammeln vor dem Erreichen des Ausgangsniveaus abgebrochen, da der stationäre Aufenthalt der Patienten nicht länger hinausgezögert werden konnte und diese lange Ausscheidungs-dauer nicht vorauszusehen war. Aus diesem Grunde sind Vergleiche zwischen den beobachteten Ergebnissen bezüglich der Ausscheidungs-dauer und der Wiederfindungsquote sehr schwierig. An Hand der Resultate und der Verläufe der einzelnen Fälle sollen daher Kalkulationen angestellt werden über: 1. den Zeitpunkt, an dem vermutlich das gesamte parenteral verabreichte Oestriol ausgeschieden sein wird, 2. die Höhe der Wiederfindung, die bei Verabfolgung der Ausscheidung bis zum Erreichen des Ausgangsniveaus erzielt worden wäre, 3. den Zeitpunkt, an dem ca. 75% des parenteral verabreichten Oestriols aus dem Organismus eliminiert sein werden.

Zugrunde gelegt wird den Rechnungen folgendes Modell:
Es wird angenommen, daß die Ausscheidung des Oestriols nach einem Exponentialgesetz verläuft. Das folgt direkt aus der Annahme, daß die Ausscheidungsgeschwindigkeit des Oestriols proportional ist zur Menge x des noch im Körper vorhandenen Oestriols.

Aus $\frac{dx}{dt} = \text{const} \cdot x$ folgt sofort $\frac{d(\ln x)}{dt} = \text{const}$

Diese zweite Gleichung stimmt mit den Ergebnissen überein, denn wie man sieht, ist die Steigung der in logarithmischem Maßstab aufgetragenen täglichen Ausscheidung konstant (abgesehen von natürlichen Schwankungen, die z.B. durch Verluste beim Harnsammeln etc. bedingt sind).

Da die Auftragung auf dekadischem Logarithmenpapier erfolgte, gilt

$$1 \quad \frac{d(\ln x)}{dt} = - \frac{c}{\log e}$$

wobei c die direkt an der Zeichnung ablesbare Steigung in der Einheit (log/Tage) bedeutet und $\log e$ der dekadische Logarithmus von $e = 2,73..$ ist.

Die Integration liefert die Ausscheidung in Abhängigkeit von der Zeit als

$$2 \quad x(t) = x_0 \exp(-ct/\log e).$$

Hier bedeutet t die fortlaufende Zahl des betrachteten Tages, wobei der 1. Tag mit 0 numeriert wird. (Hier und bei der weiteren Integration muß man sich darüber klar sein, daß man nicht über eine von der Zeit stetig abhängige Funktion integriert, sondern über eine Rechtecksfunktion; aber der Fehler ist geringfügig und fällt, da x_0 = Ausscheidung am 1. Tag angepaßt wird, heraus.)

Für die Gesamtmenge Oestriol, die nach einer Zeit T ausgeschieden ist, gilt - es wird erneut über die Zeit integriert -

$$3 \quad G(T) = \int_0^T x_0 \exp(-ct/\log e) dt = x_0 \log e/c - x_0 \log e/c \cdot \exp(-T/\log e) .$$

Die Exponentialfunktion $G(T)$ und die Funktion $x(t)$ werden graphisch den gemessenen Kurven angepaßt. Das geschieht, indem man zunächst durch den Verlauf der logarithmisch aufgetragenen täglichen Ausscheidung eine Gerade legt, die diesen Verlauf möglichst gut approximiert. Anschließend extrapoliert man den Wert x_0 der Ausscheidung am 1. Tag. Er muß auf der Näherungsgeraden liegen, wenn seine Verwendung die Ergebnisse nicht verfälschen sollen, denn der tatsächlich am 1. Tag gemessene Wert ist ja auch mit einer Streuung behaftet. Die gewisse Willkür, die beim Legen der Geraden noch möglich ist, die $x(t)$ darstellen soll, wird ausgenutzt, um $G(T)$ möglichst genau zu approximieren. Wie genau das möglich ist, zeigt Abbildung 15.

Aus der Gleichung für $G(T)$ sieht man sofort, daß die maximal ausscheidbare Menge, die natürlich nicht gemessen werden kann, da sie erst nach sehr langer (streng unendlich) Zeit erreicht wird, den Grenzwert

$$4 \quad G_{\max} = x_0 \log e/c \quad \text{besitzt.}$$

Mit $\log e = 0.43$ ist sie aus den an den Zeichnungen abgelesenen Werten sehr leicht zu errechnen.

Außerdem kann die Zeitdauer berechnet werden, nach der ein bestimmter Prozentsatz der überhaupt wiederfindbaren Menge ausgeschieden ist.

Wenn verlangt ist $G(T) = a\% G_{\max}$, gilt (siehe 3 und 4)

$$G(T) = G_{\max} (1 - \exp(-cT/\log e)) = a\% G_{\max}$$

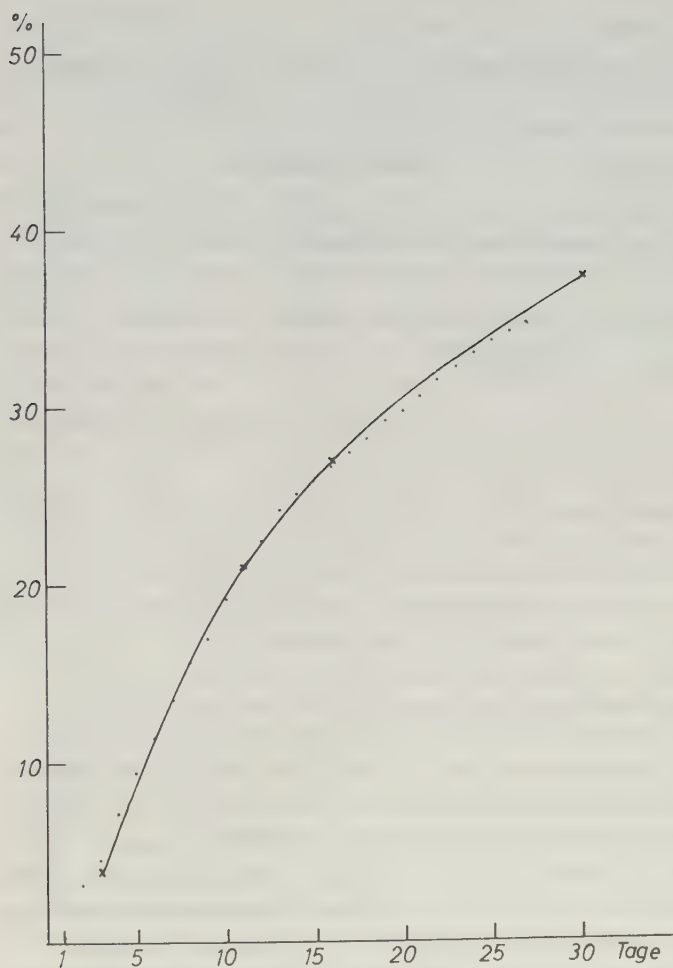


Abb. 15 Berechnete Kurve und gemessene Werte zu Fall 1

Daraus folgt:

$$1-a\% = \exp(-cT/\log e) \longrightarrow \ln(1-a\%) = \frac{-cT}{\log e} \longrightarrow$$

$$\log(1-a\%)/c = -T$$

$$\text{oder endgültig} \quad T = \frac{\log(1/(1-a\%))}{c} \quad 5$$

In unserem Falle - wir wollen wissen, wann 75% bzw. 99% der ausscheidbaren Menge ausgeschieden sind - bedeutet das:

$$\text{für 75\% : } T = \frac{\log(1/(1-75\%))}{c} = \frac{\log 4}{c} = 0.6020/c ,$$

$$\text{für 99\% : } T = \frac{\log 100}{c} = 2/c .$$

Aus der Tabelle 4 sind die Ergebnisse dieser Berechnungen abzulesen.

Mit Hilfe dieser Kalkulationen, die den Zeitraum, in dem kein Harnsammeln mehr möglich war, mitberücksichtigen, läßt sich eine Wiederfindungsquote für Oestriol von $40,4 \pm 4,1\%$ errechnen, die in dem tatsächlich gemessenen Zeitabschnitt nur $34,8 \pm 2,8\%$ betrug. Werden die bei der Urinaufarbeitung zwangsläufig auftretenden Oestriolverluste - bei unseren Wiederfindungsversuchen konnten im Durchschnitt 87% der zugesetzten Oestriolmenge wiedergefunden werden - berücksichtigt, so läßt sich eine durchschnittliche Oestriolausscheidung von $46,5 \pm 5\%$ des parenteral verabreichten Oestriols im Harn angeben.

Die von Brown (13) berechnete Wiederfindungsquote von 80% für Oestriol konnten wir in dieser Höhe nicht nachweisen. Um eine sichere Aussage über die Gesamtausbeute des ausgeschiedenen Oestriols machen zu können, wären Untersuchungen mit radioaktiv markiertem Oestriol vorteilhaft gewesen. Man hätte dabei allerdings auf Tierversuche zurückgreifen müssen, so daß die Ergebnisse nicht ohne wei-

teres auf den Menschen zu übertragen wären.

Beim Vergleich der in Tabelle 4 dargestellten Ergebnisse fällt auf, daß die Ausscheidungs-dauer bei den einzelnen Fällen unabhängig von der Höhe der injizierten Dosis deutlichen Schwankungen unterworfen ist; extrem lang ist sie bei den Fällen 1 und 5.

Bei der Frage nach den Ursachen der langen Ausscheidungs-dauer müssen mehrere Möglichkeiten diskutiert werden.

Zunächst fällt eine Beziehung zwischen der Ausscheidungs-dauer und dem Körpergewicht der Versuchspersonen ins Auge. So finden wir bei Fall 1 eine Ausscheidung über 75 Tage und ein Körpergewicht von 71 kg, bei Fall 5 eine Ausscheidung über 110 Tage und ein Körpergewicht von 79 kg, bei Fall 4 dagegen eine Ausscheidung über 12 Tage und ein Körpergewicht von 45 kg. Es liegt nahe, daß sich im Fettgewebe ein Oestrioldepot bildet, aus dem das Hormon nur langsam mobilisiert wird und deshalb verspätet zur Ausscheidung gelangt. Denkbar wäre sowohl eine Speicherung in dem der Muskulatur aufgelagerten Fettbe-reich am Orte der Oestriolinjektion als auch die Bildung eines Oestrioldepots im Fettgewebe des gesamten Organismus im Anschluß an die Resorption. Bestärkt werden wir in dieser Auffassung durch die Untersuchungsbefunde von Kaufmann und Zander (49), die eine Speicherung des steroiden Hormons Progesteron im Fettgewebe nachgewiesen haben. Eine andere Möglichkeit für die Ausscheidungsver-zögerung des injizierten Oestriols könnte in der Natur des Präparates liegen, das aufgrund seiner kristallinen Struktur nur langsam zur Resorption gelangt. Als letzte Ursache einer Ausscheidungsverzögerung sei der kontinuierliche entero - hepatische Kreislauf angeführt, dem die Oestrogene nach Untersuchungen von Sandberg und Slaunwhite (63) unterworfen sind. Die beiden letztgenann-

ten Möglichkeiten erklären allerdings nicht die unterschiedlich lange Ausscheidungsdauer. Folglich kann nur ein verschieden großer Fettkörper, der als Oestrioldepot wirkt, für dieses Phänomen verantwortlich sein.

Für normalgewichtige Frauen konnten wir eine durchschnittliche Ausscheidungsdauer von 21 ± 4 Tage errechnen. Hierbei wurden die Fälle 1 und 5 wegen veränderter Verhältnisse bei der ausgeprägten Adipositas nicht mitberücksichtigt. Unter Ausschluß dieser beiden Fälle wurden für die Eliminierung von 75% der injizierten Oestrioldosis 7 ± 1 Tage errechnet. In der Klinik müßte zur langdauernden Oestrioltherapie mit möglichst gleichmäßig hohem Hormonspiegel jeweils nach etwa 1 Woche eine erneute Dosis verabreicht werden. Der Zeitpunkt für die erneute Injektion ist im wesentlichen unabhängig von der Höhe der verabfolgten Oestrioldosis, denn durch sie wird lediglich die Größe der ausgeschiedenen Menge verändert.

VI. Zusammenfassung:

Nach der Injektion kristallinen Oestriols wird die Höhe der Hormonausscheidung in Abhängigkeit von der Dosis verändert. Durch eine sehr langsame dosisunabhängige Ausscheidung wird ein anhaltend hoher Oestriolspiegel im Organismus erzielt. Aufgrund der erhobenen Befunde wäre es daher nur mit Zurückhaltung berechtigt Oestriol in der zur Verfügung gestellten Weise anzuwenden, wenn eine kurzdauernde Wirkung beabsichtigt ist. Sollte es darauf ankommen einen langdauernd hohen Oestriolspiegel zu erreichen, so müßte die erneute Verabreichung nach etwa 1 Woche erfolgen.

VII. Literaturnachweis:

- 1 Adam, N.K., Danielli, J.F., Dodds, E.C. Kind, H., Marrian, G.F., Parkes, A.S., Rosenheim, O. Nomenclature of the oestrin group. Nature (London), 132, 205 (1933)
- 2 Allen, E., Doisy, E.A. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 243, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Journ. amer. Med.Ass. 81, 819 (1923)
- 3 Allen, E., Pratt, J.P., Newell, Q.U., Bland, J.E. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 62, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Amer. J. Physiol., 92, 127 (1930)
- 4 Bauld, W.S. A method for the determination of oestriol, oestrone and oestradiol-17B in human urine by partition chromatography and colorimetric estimation. Biochem. Journ., 63, 488, (1956)
- 5 Beall, D. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 66, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Nature (London), 144, 76, (1939)

- 6 Beall,D. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 63, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Biochem. Journ., 34, 1293 (1940)
- 7 Beer,Ch.T., Excretion of oestrogen metabolites by humans
Gallagher,T.F. I. The fate of small doses
oestrone and 17 β -oestradiol.
Journ. biol. Chem. (Baltimore)
214, 335, 351 (1955)
- 8 Birke,G., Diczfalusy, In Currie,A.R. Editor,
E., Franksson,C., Endocrine Aspects of Breast
Hellström,J., Hult- Cancer p.213, Edinburgh:
berg,S., Plantin,L.-O.,Livingstone 1958
Westman,A.
- 9 Brentle,E., v.Münster- zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
mann,A.M., Diczfalusy, ritzen, Oestrogene beim Menschen
E., Martinsen,B., S. 61, Berlin-Göttingen-Heidel-
Tillinger,K.-G. berg: Springer-Verlag 1961
Acta obstet. gynec. scand.
38, 724 (1959)
- 10 Breuer,H., Nocke,W., Zur Bestimmung der Oestrogene
Geissler,G., im Urin
Mitchell,F.L. Klin. Wschr., 35, 672 (1957)
- 11 Brown,J.B. In Currie,A.R. Editor,
Endocrine Aspects of Breast
Cancer p. 197, Edinburgh:
Livingstone 1958

- 12 Brown, J.B. A chemical method for the determination of Oestriol, oestrone and oestradiol-17 β in human urine
Biochem. Journ., 60, 185 (1955)
- 13 Brown, J.B. The relationship between urinary oestrogens and oestrogens produced in the body
Journ. Endocrin., 16, 202 (1957)
- 14 Brown, J.B., Bulbrook, R.D., Greenwood, F.C. An evolution of a chemical method for the estimation of oestriol, oestrone and oestradiol-17 β in human urine
Journ. Endocrin., 16, 41 (1957)
- 15 Brown, J.B., Bulbrook, R.D., Greenwood, F.C. zitiert nach: Diczfalussy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 289, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Journ. Endocrin., 16, 49 (1957)
- 16 Bulbrook, R.D., Franks, L.M., Hadfield, G.J., Scowen, E.F. zitiert nach: Diczfalussy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 66, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Brit. med. Journ., 11, 7, (1958)
- 17 Bulbrook, R.D., Greenwood, F.C., Williams, T.C. Comparison of biological and chemical estimation of urinary oestrogens
I. Urine from normal men and women and a eunuch
Journ. Endocrin., 15, 206 (1957)

- 18 Butenandt, A. Über "Progynon", ein kristallisiertes weibliches Sexualhormon
Naturwissenschaften, 17, 879
(1929)
- 19 Butenandt, A. zitiert nach: Allner, R.,
Experimentelle Untersuchungen
über die Anwendbarkeit der
Brown'schen Methode zur Bestimmung von Oestron, 17- β Oestradiol
und Oestriol im Harn S.20
Marburg: Verlag Mauersberger
(1962)
Endocrinology, 28, 747 (1941)
- 20 Butenandt, A., Weidlich, H. A., Thompson, H. Neue Beiträge zur Konstitution
des Follikelhormons
Ber. dtsh. chem. Ges.
66, 601 (1933)
- 21 Cohen, S. L., Bates, R. W. Occurrence and determination of
conjugated sulfates of oestrogens in urine from pregnant
women
Endocrinology, 45, 86 (1949)
- 22 Cohen, S. L., Marrian, G. F. CCXII. The application of the
Kober test to the quantitative
estimation of oestrone and
Oestriol in human pregnancy urine
Biochem. Journ., 28, 1603 (1934)

- 23 Corey,E.L. zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 66, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Amer. Journ. Physiol., 105, 24
(1933), 132, 446 (1941)
- 24 Corey,E.L., Britton, zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
S.W. ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 66, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Amer. Journ. Physiol., 107, 207
(1934)
- 25 Curtis,J.M., Doisy,E.A. Bioassay of theelol
Journ. biol. Chem., 91, 647
(1931)
- 26 Declerck,P. zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 69, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Bull. Soc. roy. belge Gynéc. et
Obstét., 26, 493 (1956)
- 27 De Meio,R.H., Rakhoff, zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
A.E., Cantarow,A., ritzen, Oestrogene beim Menschen
Paschkis,K.E. S. 88, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Spriger-Verlag 1961
Endocrinology, 43, 97 (1948)
- 28 Diczfalusy,E. Experimental verification of
the assumption underlying the
colour correction equation of
Allen
Acta endocrinol., 20, 216 (1955)

- 29 Diczfalusy,E. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 70, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Acta endocrin. (Kbh.) Suppl. 12, XII (1953)
- 30 Diczfalusy,E., Lauritzen,Ch. Oestrogene beim Menschen S.102, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
- 31 Diczfalusy,E., Lauritzen,Ch. Oestrogene beim Menschen, S.302, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
- 32 Diczfalusy,E., Lauritzen,Ch. Oestrogene beim Menschen S.88, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
- 33 Diczfalusy,E., Lauritzen,Ch. Oestrogene beim Menschen S.60, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
- 34 Diczfalusy,E., Westman,A. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 372, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Acta endocrin. (Kbh.) 21, 321 (1956)
- 35 Dingemanse,E., Laqueur,E., Mühlbock,O. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 63, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Nature (London), 141, 927 (1938)

- 36 Doisy, E.A., Veler, C.D., The preparation of the cristal-
Thayer, S.A. line ovarian hormon from the
urine of pregnant women
Journ. biol. Chem. (Baltimore)
86, 499, (1930)
- 37 Evans, J.S., Varney, The mouse uterine weight method
R.F., Koch, F.C. for the assay of oestrogens
Endocrinology, 28, 747 (1941)
- 38 Finkler, R.S. zitiert nach: Diczfalussy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 66, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Journ. clin. Endocrin., 8, 88
(1948)
- 39 Glimm, E., Wadehn, F. Über lipoidlösliche und lipoid-
unlösliche Formen des Ovarial-
hormons (Feminin)
Biochem. Ztschr., 207, 361 (1929)
- 40 Goldzieher, J.M., Identification of oestrogen in
Bodenchuk, Nolan, P. the human testis
Journ. clin. Endocrin., 12, 143
(1952)
- 41 Goldzieher, J., zitiert nach: Diczfalussy-Lau-
Roberts, I.S. ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 63, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Journ. clin. Endocrin., 11, 64
(1951)

- 42 Gordon, E.E., An in vitro assay for estro-
Viltee, C.A. diol-17 β and estrone
Endocrinology, 58, 150 (1956)
- 43 Greenblatt, R.B., zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
Brown, N.H. ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 344, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Amer. Journ. Obstet. Gynec.
63, 1361 (1952)
- 44 Häussler, E.P. zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 63, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Helv. chim. Acta, 17, 531 (1934)
- 45 Hardy, J.D., Ward, V.B., zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
Turner, M.D., Sampson, ritzen, Oestrogene beim Menschen
L.P. S. 66, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Surg. Forum, 8, 109 (1957)
- 46 Hartiala, K.J.W. zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 105, 323, Berlin-Göttingen-
Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Acta physiol. scand. Suppl.
145, 67 (1957)
- 47 Heusghem, C. Contribution à l'Etude analytique
et biochimique des Oestrogènes
naturels
Liège: Thone 1956

- 48 Heusghem,C., Verly,W. Die Anwendung von Isotopen zum Studium des Stoffwechsels von Androgenen und Oestrogenen
Referat in: Ber. ges. Gyn. u. Geb., 58, 331 (1956)
- 49 Kaufmann,C., II. Mitteilung
Zander,J. Progesteron im Fettgewebe
Klin. Wschr., 1/2, 7 (1956)
- 50 Kober,S. Eine kolorimetrische Bestimmung des Brunsthormons (Menformon)
Biochem. Ztschr., 239, 209 (1931)
- 51 Koch,W., Heim,E., zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
Eschweiler,J. ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 344, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Acta endocrinol., 16, 369 (1954)
- 52 Leblond,C.P. In Ciba Found. Conf. on Isotopes
in Biochemistry p.4
Philadelphia: The Blakiston Comp.
1956
- 53 Lethinen,A., zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
Hartiala,K.J.W. ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 105, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Suomen Kemistil., 31, 336 (1958)
- 54 Loke,K.H., Marrian, Isolation of 2-methoxyoestrone
G.F. from the urine of pregnant women
Biochem. biophys. Acta,
27, 213 (1958)

- 55 Marlow, H.W. Groups involved in the Zimmermann and Kober reactions
Journ. biol. Chem., 183, 167
(1950)
- 56 Marrian, G.F. The chemistry of oestrin
IV. The chemical nature of
crystalline preparations
Biochem. Journ. 24, 1021 (1930)
- 57 Marrian, G.F., Bauld, W.S. The hydrolysis of the conjugated
oestrogens in human urine
Acta endocrinol., 7, 240 (1951)
- 58 Marrian, G.F., Haslewood, G.A.D. zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 5, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Biochem. Journ., 26, 25 (1930)
- 59 Oneson, J.B., Cohen, S.L. The nature of the conjugated
estrone in human pregnancy urine
Endocrinology, 51, 173 (1952)
- 60 Pontius, D. Zur Farbreaktion der phenolischen
Steroide mit Überchlorsäure
Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol.
Chem., 298, 268 (1954)
- 61 Ryan, K.J., Engel, L.L. zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 89, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Endocrinology, 52, 287 (1953)

- 62 Salhanick, H.A.,
Berliner, D.L. zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 66, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Journ. biol. Chem., 227, 583
(1957)
- 63 Sandberg, A.A.,
Slaunwhite, W.R. Studies on phenolic steroids in
human subjects
II. The metabolic fate and hepa-
tobiliary-enteric circulation
of C¹⁴-estrone and C¹⁴-estradiol
in women
Journ. clin. Invest., 36^{II},
1266 (1957)
- 64 Schwenk, E.,
Hildebrandt, F. Reduktion des Follikelhormons
Naturwissenschaften, 21, 177
(1933)
- 65 Stockard, C.R.,
Papanicolaou, G.N. zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 4, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Amer. Journ. Anat., 22, 225 (1917)
- 66 Thayer, S.A., Levin, L.,
Doisy, E.A. zitiert nach: Diczfalusy-Lau-
ritzen, Oestrogene beim Menschen
S. 5, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg: Springer-Verlag 1961
Journ. biol. Chem., 91, 655 (1931)

- 67 Tomkins, G.M. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 88, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Recent. Progr. Hormone Res., 12, 125 (1956)
- 68 Vague, J.,
Garrigues, J.C. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 344, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Ann. Endocr. (Paris), 16, 805 (1955)
- 69 Wenner, R., Hauser, A. zitiert nach: Diczfalusy-Lauritzen, Oestrogene beim Menschen S. 299, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1961
Vortrag V. Symposium Dtsch. Ges. Endocrin. H. Nowakowski Edit. p. 120, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1958
- 70 Zimmermann, W. Chemische Bestimmungsmethoden von Steroidhormonen in Körperflüssigkeiten S. 53, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1955
- 71 Zondek, B., Pfeifer, V. Further Studies on urinary oestriol excretion during pregnancy and its significance for estimation of placental function and dysfunction in advanced pregnancy
Acta obstet. gynecol. Scand. 38, 742 (1959)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med.
Würterle für die Überlassung des Themas und die
wertvolle Unterstützung bei der Ausführung der
Arbeit.

Herrn Dipl. Phys. J. Treusch danke ich für die
freundliche Beratung bei den statistischen Berech-
nungen.

Lebenslauf

Am 15.11.1939 wurde ich als Sohn des Gärtnermeisters Ewald Waschke und seiner Ehefrau Maria, geb. Müller, in Dessau geboren.

Die achtjährige Volksschul Ausbildung erhielt ich an zwei Dorfschulen in der Altmark und an einer Grundschule in Dessau, wohin wir nach Rückkehr meines Vaters aus russischer Kriegsgefangenschaft wieder zogen. Ab 1953 besuchte ich in Dessau die Oberschule Philanthropinum, in der ich 1957 das Abitur ablegte.

Da ich an der Ostberliner Humboldt - Universität nicht zum Studium zugelassen wurde, ging ich im Herbst 1957 nach Westdeutschland. In Worms mußte ich eine Ergänzungsprüfung zum Abitur ablegen. Anschließend begann ich im Wintersemester 1957/58 das Medizinstudium in Mainz und bestand dort 1958 das Vorphysikum, 1960 das Physikum. Im Sommersemester 1960 setzte ich mein Studium in Kiel fort, im Wintersemester 1960/61 wechselte ich nach Marburg. Von 1961 bis 1963 konnte ich im Hormonlabor der Universitäts-Frauenklinik an meiner Dissertation arbeiten. Nach bestandenen Staatsexamen am 7.10.1963 begann ich meine Medizinalassistentenzeit an der Universitäts-Frauenklinik in Marburg, die ich im April 1964 am Kreiskrankenhaus in Lemgo/Lippe fortsetzen konnte. Zur Zeit arbeite ich dort auf der chirurgischen Abteilung. Nach Beendigung der Medizinalassistentenzeit möchte ich mit der Ausbildung als Fachinternist beginnen.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren
und Dozenten

in Mainz: Bässler, Dabelow, Höhn, Kern, Klages, Lang,
Mislín, Schriever, Siebert, Strassmann, Watzka

in Kiel: Doerr, Gärtner, Hallermann, Hertz, Knothe,
Philipp, Reinwein, Wanke

in Marburg: Beckmann, Berendes, Bock, Braun-Falco, Exner,
Förster, Gedigk, Hamm, Hartmann, Heuser,
Hildebrandt, Hornung, Huber, Jacob, Lang,
Linneweh, Lübbers, v.Manger-König, du Mesnil
de Rochemont, Müller, Neubauer, Niessing,
Nieth, Prinz, Schmid, Schwaiger, Siegert,
Siess, Straub, Streicher, Würterle

